

# **Enttauschen chemischer Messsignale zur Verbesserung der Nachweisgrenze**

*Dissertation*

**zur Erlangung des akademischen Grades  
doctor rerum naturalium  
(Dr. rer. nat.)**

vorgelegt dem Rat der Chemisch-Geowissenschaftlichen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Diplomchemiker (Umweltchemie) Simon Prikler  
geboren am 19.04.1982 in Fürth

Gutachter:

1. Prof. Dr. Jürgen W. Einax, Jena
2. Prof. Dr. Klaus Danzer, Jena
3. Prof. Dr. Karl Molt, Essen

Tag der öffentlichen Verteidigung: 19. Oktober 2011

## Abkürzungen

AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
AsB	Arsenobetain
CCD	Charge-coupled device
DIN	Deutsches Institut für Normung
DMA	Dimethylarsinsäure
DPASV	Differential pulse anodic stripping voltammetry
Ext	Extinktion
FFT	schnelle Fourier-Transformation
FT	Fourier-Transformation
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HR-CS-AAS	High-Resolution-Continuum-Source-Atomabsorptionsspektrometrie
ICP	induktiv gekoppeltes Plasma
Int	Intensität
kA	kathodische Anreicherung
Me	Metall
MS	Massenspektrometrie
MSE	mittlere Fehlerquadratsumme
NG	Nachweisgrenze
PRESS	Predicted error sum of squares
$R_{pp}$	Peak-zu-Peak-Rauschen
RMSEP	Root mean square error of prediction
SNR	Signal-Rausch-Verhältnis
UV	Ultraviolette Strahlung
WT	Wavelet-Transformation

## Formelzeichen

$\alpha$	Signifikanzniveau (Wahrscheinlichkeit für den Fehler 1. Art)
$a$	Dilatationsfaktor der Wavelet-Transformation
$a_0$	Ordinatenabschnitt einer Kalibriergeraden
$a_1$	Steigung einer Kalibriergeraden (Empfindlichkeit)
$a_k$	Fourier-Koeffizient der Cosinusterme
$\beta$	Wahrscheinlichkeit für den Fehler 2. Art
$b$	Translationsfaktor der Wavelet-Transformation
$b_k$	Fourier-Koeffizient der Sinusterme
$c$	Konzentration
$c_{a,b}$	Wavelet-Koeffizient
$c_{\text{NG}}$	Konzentration an der Nachweisgrenze
$C$	Rücktransformationskonstante der Wavelet-Transformation
$\Delta a_0$	Vertrauensbereich des Ordinatenabschnitts
$\Delta U$	Spannungspuls
$d$	Weglänge des Lichts durch die Atomisierungseinheit in der AAS
$D$	Diffusionskonstante des Analyten im Quecksilber
$\varepsilon$	Exktinktionskoeffizient
$f$	Funktion
$\hat{f}$	Fourier-Transformierte der Funktion $f$
$F$	Faradaykonstante
$g$	Spannungsänderungsgeschwindigkeit
$h$	Peakhöhe
$h_{0,5}$	halbe Peakhöhe
$i, j$	Laufvariable
$I$	Stromstärke
$k$	Faktor
$k_{\text{DPASV}}$	Konstante in der DPASV
$\lambda$	Wellenlänge
$l$	Gerätefunktion
$\mu$	Mittelwert einer Gauß-Kurve
$m$	natürliche Zahl
$\nu_0$	Grenzfrequenz ( <i>cut-off frequency</i> )

$n$	Zahl der Glieder einer Summe
$N_K$	Zahl der Kalibrierpunkte
$N_W$	Zahl der Wiederholmessungen
$\omega$	Frequenz
$\Omega$	Kreuzkorrelationsfunktion
$\Phi$	Skalierungsfunktion
$\Psi$	Waveletfunktion
$Q_{cc}$	Summe der Abweichungsquadrate bei der Kalibrierung
$r$	Funktion des Rauschens
$r_{\text{Hg}}$	Radius des Quecksilbertropfens
$R$	Auflösung von Peaks in der HPLC
$\sigma$	Standardabweichung einer Gauß-Kurve
$s_B$	Standardabweichung des Blindwertes
$s_{y,c}$	Reststandardabweichung der Kalibriergeraden
$t$	Zeit
$t_{f,\alpha}$	Quantil der $t$ -Verteilung bei einseitiger Fragestellung für den Fehler 1. Art
$t_R$	Retentionszeit
$u, v$	allgemeine Funktionen
$U$	Spannung
$U_{0,5}$	Halbstufenpotenzial
$V_{\text{Hg}}$	Volumen des Quecksilbertropfens
$V_m$	mittlerer Verbesserungsfaktor
$w_{0,5}$	Halbwertsbreite
$w_{0,5,\text{rel}}$	relative Halbwertsbreite (bezogen auf den Analytpeak)
$\xi$	Laufvariable zu $x$
$x$	unabhängige Variable
$X$	Signallänge, größter Wert $x$
$y$	Messwert
$\hat{y}$	Messwert in entrauschter Signalkurve
$y_A$	Messwert des Analyten
$y_B$	Messwert des Blindwertes
$y_k$	kritischer Messwert
$y_{\text{net}}$	blindwertkorrigierter Messwert (Nettosignal)
$z$	Zahl der übergegangenen Elektronen bei Redoxvorgängen

# Inhaltsverzeichnis

Seitenzahl

*Abkürzungen*

*Formelzeichen*

<b>1</b>	<b>Problemstellung.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Grundlagen.....</b>	<b>2</b>
2.1	Messsignale und Rauschen.....	2
2.1.1	Definition und Berechnung des Rauschens.....	2
2.1.2	Signal-Rausch-Verhältnis und Nachweisgrenze.....	5
2.2	Analytische Messmethoden.....	10
2.2.1	Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma .....	11
2.2.2	Inverse Voltammetrie.....	13
2.2.3	Atomabsorptionsspektrometrie mit elektrothermischer Atomisierung.....	16
2.3	Mathematische Methoden der Signalbehandlung.....	20
2.3.1	Faltung mit Gauß-Kurven.....	22
2.3.2	Fourier-Transformation.....	24
2.3.3	Wavelet-Transformation.....	27
<b>3</b>	<b>Entrauschen bei konstanter Basislinie.....</b>	<b>33</b>
3.1	Bestimmung von Arsenspezies mittels Flüssigkeitschromatographie- Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma .....	33
3.1.1	Experimentelles.....	33
3.1.2	Kalibrierkurven, Nachweisgrenzen und Signal-Rausch-Verhältnisse.....	34
3.2	Faltung mit Gauß-Kurven.....	37
3.2.1	Vorüberlegungen zur Auswahl der Gauß-Kurven.....	38
3.2.2	Entrauschen der Chromatogramme.....	40
3.3	Fourier-Transformation.....	43
3.3.1	Bestimmung der optimalen Grenzfrequenz.....	43
3.3.2	Entrauschen mittels Fourier-Transformation.....	46

3.4	Wavelet-Transformation.....	48
3.4.1	Entauschen der Chromatogramme mit Daubechies-Wavelets.....	49
3.4.2	Entauschen der Chromatogramme mit Coiflets.....	51
3.4.3	Entauschen der Chromatogramme mit Symlets.....	53
3.4.4	Auswahl des geeignetsten Wavelets.....	56
3.5	Vergleich der gewählten Methoden der Signalbehandlung.....	58
<b>4</b>	<b>Entauschen bei stark veränderlicher Basislinie.....</b>	<b>65</b>
4.1	Bestimmung von Cadmium mittels inverser Voltammetrie.....	65
4.1.1	Experimentelles.....	66
4.1.2	Auswertung der Originaldaten.....	67
4.2	Schwierigkeiten bei Faltung mit Gauß-Kurven.....	69
4.3	Erfolgreiches Entauschen mit Fourier- und Wavelet-Transformation.....	71
4.3.1	Abschätzung der Grenzfrequenz und Verwendung der Fourier-Transformation...	71
4.3.2	Einsatz verschiedener Wavelets zum Entauschen.....	73
4.4	Vergleich der verwendeten Methoden der Signalbehandlung.....	76
<b>5</b>	<b>Entauschen von zwei- und dreidimensionalen Spektren.....</b>	<b>79</b>
5.1	Bestimmung von Cadmium mittels Atomabsorptionsspektrometrie mit elektrothermischer Atomisierung.....	79
5.1.1	Experimentelles.....	79
5.1.2	Auswertung als zwei- und dreidimensionale Spektren.....	80
5.2	Entauschen der zweidimensionalen Spektren.....	83
5.3	Entauschen der dreidimensionalen Spektren.....	87
5.4	Vergleich der Auswertung von zwei- und dreidimensionalen Spektren.....	90
<b>6</b>	<b>Schlussfolgerungen und Zusammenfassung.....</b>	<b>93</b>

*Literaturverzeichnis*

*Anhang*

*Danksagung*

*Selbständigkeitserklärung*

*Lebenslauf*

## 1 Problemstellung

In der modernen analytischen Chemie, besonders im Bereich der Umweltanalytik, sind als Aufgabe nicht nur der Nachweis und die Quantifizierung von Hauptbestandteilen vorgegeben, sondern insbesondere auch von Substanzen im Spuren- und Ultraspurenbereich. Dies ist der Erkenntnis geschuldet, dass selbst geringste Spuren toxischer Substanzen summarisch einen negativen Effekt auf Mensch oder Umwelt ausüben können [1]. Auch bei der Entwicklung neuer Methoden oder Geräte, bzw. bei der Verbesserung bestehender, stößt man an die Grenzen der Machbarkeit, wenn die Konzentrationen oder Gehalte unterhalb der Nachweisgrenzen liegen.

Die Nachweisgrenze ist unterschritten, wenn das Signal des Analyten kleiner als das unvermeidbare Rauschen ist, und somit nicht erkannt wird. Wenn das Analytsignal nicht durch Optimierung der Analysenmethode erhöht werden kann [2], ist es dennoch möglich, das Rauschen zu vermindern. Dafür können mathematische Methoden der Signalbehandlung genutzt werden. Weithin bekannt ist der Einsatz von Filtern zur Glättung von Messsignalen. Dabei besteht allerdings der Nachteil der Überglättung, das heißt, dass besonders kleine Analytsignale so verringert werden, dass sie nach dem Filtern nicht mehr erkannt werden. Fortgeschrittenere Methoden sind die Faltung mit Gauß-Kurven, die Fourier-Transformation und die Wavelet-Transformation, die in dieser Arbeit zum Entrauschen genutzt werden.

Frühere Studien, insbesondere zum Einsatz der Faltung mit Gauß-Kurven und der Fourier-Transformation, sind in der Regel darauf beschränkt, künstlich verrauschte Gauß-Peaks oder Sinuskurven zu entrauschen [3-5]. Tatsächlich auf reale analytische Messsignale bezogene Forschungsergebnisse sind selten. Die Faltung mit Gauß-Kurven, die eine Kreuzkorrelationsanalyse darstellt, hat ihre Wurzeln in der Autokorrelationsanalyse, welche zur Peakerkennung im Rauschen dienen kann [6], und somit ähnliche Ziele verfolgt wie das Entrauschen: den qualitativen Nachweis eines Analyten.

Die Fourier-Transformation wird heutzutage standardmäßig in der analytischen Chemie eingesetzt, und hat beispielsweise der Fourier-Transform-Infrarot-Spektroskopie zu ihrem Namen verholfen. Eine weitere Methode, bei der sie Verwendung findet, ist die Voltammetrie in Form der Wechselstrom-Fourier-Transformations-Voltammetrie [7-11].



Der Einsatz zum reinen Entrauschen von Messsignalen ist dabei weitaus geringer verbreitet, und beschränkt sich meist auf theoretische Überlegungen.

Die Wavelet-Transformation kann als Weiterentwicklung der Fourier-Transformation angesehen werden [12, 13]. Sie stellt eine noch recht neue Methode dar, wird seit den 1980er Jahren jedoch häufig und auch in der analytischen Chemie als Hilfsmittel verwendet [14-16]. Die Anwendungsmöglichkeiten sind dabei recht breit. Neben dem Entrauschen [17-22] kann sie auch erfolgreich zur Peakauflösung genutzt werden [23-27]. Neueste Entwicklungen sind in der Verwendung der höherdimensionalen Wavelet-Transformation zu sehen, die zur Entrauschung von dreidimensionalen Signalkurven dienen kann [28]. In der Regel werden bei der Anwendung jedoch nur einige wenige Waveletfunktionen genutzt, wobei eine Beschreibung der Auswahl geeigneter Funktionen in der Literatur zu meist nicht angegeben ist.

Somit stellt sich die Frage, welche Methode der Signalbehandlung in der analytischen Chemie am besten geeignet ist, Messsignale zu entauschen, da ein Vergleich von Faltung mit Gauß-Kurven, Fourier-Transformation und Wavelet-Transformation mittels verschiedener Waveletfunktionen bislang fehlt. Auch ist eine Einschätzung wünschenswert, welche der vielen Wavelets geeignet sind, klassische analytische Messsignale zu entauschen bzw. es steht die Frage im Raum, ob es Unterschiede zwischen Analysenverfahren gibt hinsichtlich der Auswahl der Wavelets.

Ziel dieser Arbeit ist daher, den Einsatz der Faltung mit Gauß-Kurven, der Fourier-Transformation sowie der Wavelet-Transformation zum Entrauschen an Hand verschiedener Beispiele aus der analytischen Chemie systematisch zu untersuchen. Dabei gelten die Erhöhung des Signal-Rausch-Verhältnisses und die Verminderung der Nachweisgrenze als Optimierungsgrößen.

## 2 Grundlagen

### 2.1 Messsignale und Rauschen

In der modernen, instrumentellen analytischen Chemie werden in der Regel Messergebnisse nicht mehr durch einzelne Zahlen (pH-Wert, Masse, Volumen) oder Eindrücke (Geruch, Farbe, Geschmack) ausgedrückt, sondern man erhält als primäres Ergebnis, meist Software-gesteuert, eine Signalkurve. Diese muss dann interpretiert werden, um Rückschlüsse auf die Art (qualitativ) und die Menge (quantitativ) eines Analyten zu treffen.

Meist stellen Messkurven zeitabhängige Signale dar. In anderen Fällen ist die unabhängige Variable zumindest indirekt auf eine zeitliche Änderung zurückzuführen. Eine Abhängigkeit der Signale von mehreren Variablen ist ebenso denkbar, man erhält dann höherdimensionale Messsignale. Durch Umwandlung von Informationen im Detektor entstehen bei den meisten analytischen Methoden elektrische Signale, die anschließend in eine digitale Form umgewandelt an einen Computer weitergegeben werden [29]. Je niedriger ihr Leistungspegel ist, desto stärker werden sie jedoch vom Rauschen gestört, das das eigentliche Nutzsignal überlagert. Häufig kann diese Störung mathematisch so beschrieben werden (Gl. 2.1), dass das Nutzsignal durch Faltung mit der Gerätefunktion  $l$  verändert und anschließend additiv mit dem Rauschen  $r$  überlagert ist.

$$y = y_{\text{Nutz}} * l + r \quad \text{Gl. 2.1}$$

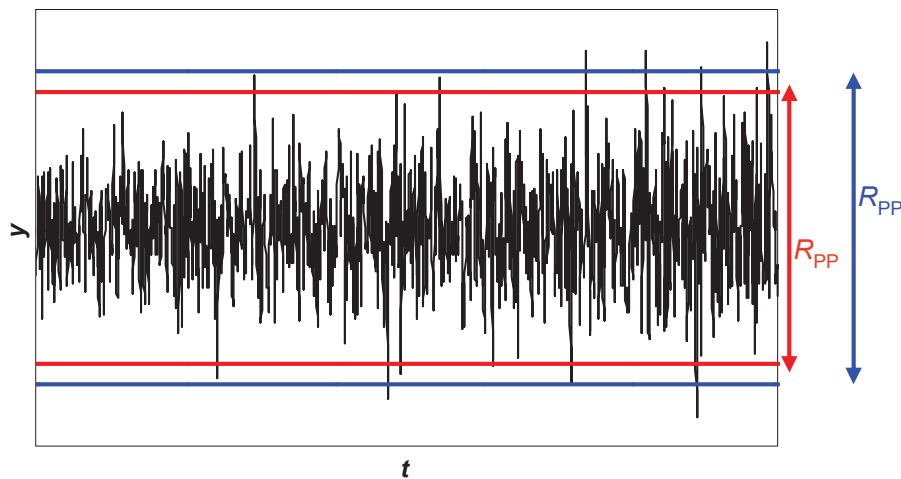
Das Rauschen kann dabei zufällig auftreten, wie im Schrotrauschen oder im thermischen Rauschen [30]. Da die Amplitude nahezu konstant ist, wird es als weißes Rauschen bezeichnet. Daneben gibt es auch rosa oder rotes Rauschen (Flicker- bzw. Impulsrauschen), bei dem die Rauschamplitude indirekt proportional zur einfachen oder quadratischen Frequenz ist [31].

#### 2.1.1 Definition und Berechnung des Rauschens

Um das Rauschen mathematisch zu erfassen, gibt es eine Reihe von Vorschlägen [29, 32]. Wenn man dabei von weißem Rauschen ausgeht, so ist dessen Mittelwert  $\bar{y}_B$  eine Konstante, um die die Werte  $y_{B,i}$  mit einer Standardabweichung  $s_B$  schwanken. Es ist jedoch hinsichtlich der Beurteilung von Messsignalen nicht sinnvoll, die gesamte Rauschamplitu-

de – als Peak-zu-Peak-Rauschen  $R_{pp}$  bezeichnet – zu erfassen, bei der die Differenz aus dem größten Wert  $y_{B,max}$  und dem kleinsten  $y_{B,min}$  berechnet wird. Sehr extreme Werte, die sich mehr als das Vierfache der Standardabweichung vom Mittelwert des Rauschens unterscheiden sind auf Grund der stochastischen Verteilung der Werte sehr selten und damit für das Messsignal nicht störend, da dieses in der Regel mehr als drei bis vier Datenpunkte breit ist. Eine Verwechslung solcher Extremwerte mit dem Nutzsignal tritt somit kaum auf. Meist wird eine Art Vertrauensbereich zum Mittelwert über die Standardabweichung  $s_B$  berechnet. Der doppelte Vertrauensbereich umfasst dann den Großteil aller Messwerte des Rauschens (bis auf einen Anteil von z.B. 1 oder 5 %, je nach gewähltem Signifikanzniveau). Die Rauschamplitude wird dabei meist vereinfachend als fünf- [33] oder sechsfache Standardabweichung (vgl. Abb 2.1) berechnet (Gl. 2.2), allgemein als  $k$ -fache [34].

$$R_{pp} = k \cdot s_B \quad \text{mit typischen Werten } k = 5 \text{ oder } k = 6 \quad \text{Gl. 2.2}$$



**Abb. 2.1** Rauschende Signalkurve (schwarz) mit Rauschamplitude  $R_{pp}$ , berechnet aus der sechsfachen Standardabweichung (blau) und über die obere und untere Schranke für  $k = 2,58$  (rot)

Im Rahmen dieser Arbeit wird ein etwas erweitertes Verfahren vorgeschlagen, um das Peak-zu-Peak-Rauschen zu erfassen. Ausgehend vom Mittelwert des Blindwertes  $\bar{y}_B$  und dessen Standardabweichung  $s_B$  werden zwei Schranken definiert (Abb. 2.1). Die eine liegt um das 2,58-fache der Standardabweichung über dem Mittelwert des Blindwertes, die andere um das 2,58-fache darunter. Somit liegen 99 % aller Messwerte  $y_i$  innerhalb dieser beiden Schranken [35]. Um nun die Rauschamplitude zu berechnen, werden sowohl alle

Messwerte oberhalb als auch alle unterhalb der Schranken jeweils gemittelt (Gl. 2.3 und 2.4).

$$\bar{y}_{>99\%} = \frac{1}{n} \cdot \sum_i^n y_{>99\%;i} \quad \text{mit } y_{>99\%;i} > 2,58 \cdot s_B + \bar{y}_B \quad \text{Gl. 2.3}$$

$$\bar{y}_{<99\%} = \frac{1}{n} \cdot \sum_i^n y_{<99\%;i} \quad \text{mit } y_{<99\%;i} < -2,58 \cdot s_B + \bar{y}_B \quad \text{Gl. 2.4}$$

Das Peak-zu-Peak-Rauschen ergibt sich dann als Differenz der beiden Mittelwerte (Gl. 2.5) und ist somit noch stärker abgesichert als bei Nutzung von Vielfachen der Standardabweichung als Rauschamplitude.

$$R_{pp} = \bar{y}_{>99\%} - \bar{y}_{<99\%} \quad \text{Gl. 2.5}$$

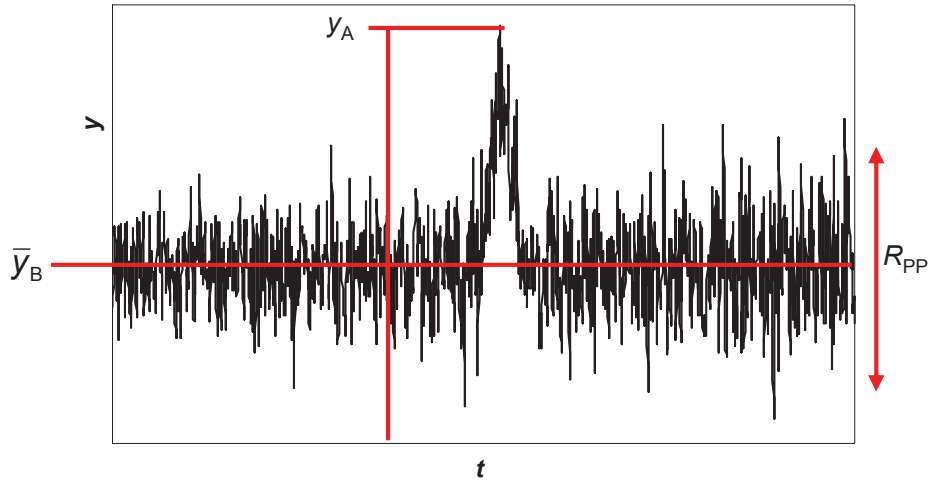
### 2.1.2 Signal-Rausch-Verhältnis und Nachweisgrenze

Als Entscheidungsmaß zur Abschätzung, ob in der vorliegenden Signalkurve tatsächlich ein Analytsignal enthalten ist, und damit in der Probe der Analyt, kann das Signal-Rausch-Verhältnis (SNR) dienen. Auch dieser Begriff wurde in der Signaltheorie und Gerätetechnik geprägt, wird aber ebenfalls direkt zur Beurteilung analytischer Messmethoden genutzt [36].

Die grundsätzliche Forderung an die Signalkurve besteht darin, dass sich ein Messsignal  $y_A$  aus dem Rauschen  $y_B$  hervorheben muss [37] (vgl. Abb. 2.2).

Die Berechnung des SNR ist dabei allerdings, wie bereits beim Rauschen selbst, nicht einheitlich. Somit sind auch die Entscheidungskriterien, ob ein „gutes“ oder „schlechtes“ SNR vorliegt, unterschiedlich. Das Signal selbst wird in der Regel als Nettosignal, d.h. abzüglich des mittleren Blindwertes angegeben (Gl. 2.6).

$$y_{\text{net}} = y_A - \bar{y}_B \quad \text{Gl. 2.6}$$



**Abb. 2.2** Künstlich verrauschter Gauß-Peak mit Signalgröße  $y_A$  der sich aus dem Rauschen mit Peak-zu-Peak-Amplitude  $R_{PP}$  und Mittelwert  $\bar{y}_B$  hervorhebt

Als Rauschgröße wird sehr häufig die Standardabweichung des Rauschens  $s_B$  genutzt [38, 39], wobei dann wieder die Frage nach der Berechnung dieser auftaucht. Der Anwender nimmt dabei meist direkt die Standardabweichung aller Blindwertsignale  $y_{B,i}$ , oder auch, um die Messung eines Blindwertes zu umgehen, die Standardabweichung von Messwerten einer Signalkurve, bei denen kein Peak erscheint. Die Mittelung der Standardabweichungen von Analyt- und Blindwertsignalen kann allerdings auch erfolgen, wobei sich dabei der Wert durch entsprechend viele Messungen von Analyt und Blindwert proportional zur Wurzel der Zahl der Messungen verringert [40].

Ein anderer Weg bei der Berechnung des SNR geht vom Peak-zu-Peak-Rauschen aus [41]. Dabei ergibt sich analog das Problem, wie das  $R_{PP}$  bestimmt werden kann.

In dieser Arbeit werden sämtliche Signal-Rausch-Verhältnisse auf Basis von Gl. 2.7 berechnet.

$$\text{SNR} = \frac{y_A - \bar{y}_B}{R_{PP}} = \frac{y_{\text{net}}}{R_{PP}} \quad \text{Gl. 2.7}$$

Auf Grund der Tatsache, dass die direkt bestimmte Standardabweichung  $s_B$  nur ungefähr ein Fünftel bis ein Sechstel des  $R_{PP}$ -Wertes beträgt, liegen die über das Peak-zu-Peak-Rauschen berechneten Signal-Rausch-Verhältnisse wesentlich tiefer als es Analytiker in der Regel gewohnt sind. SNR-Werte um 1 bedeuten bei der in dieser Arbeit verwendeten Formel bereits, dass sich das Analytsignal signifikant vom Blindwert unterscheidet [36].

Für den Vergleich von SNR-Werten vor und nach der angewendeten Signalbehandlung hat der Absolutwert allerdings keine Bedeutung.

Über die Frage, wie groß das SNR mindestens sein soll, kommt man bereits zum nächsten wichtigen Begriff zur Beurteilung, ob ein Analyt in der Messlösung vorliegt: die Nachweisgrenze.

Definitionen für diese sind ebenfalls vielfältig [29, 42], wobei es grundlegend darum geht, den Gehalt zu finden, für den das erhaltene Messsignal mit einem Fehler  $\beta$  fälschlicherweise dem Blindwert zugeordnet, d.h. nicht erkannt wird, und bei dem mit einem Fehler  $\alpha$  fälschlicherweise ein Blindwert als Analytsignal interpretiert wird [43]. Für die Irrtumswahrscheinlichkeit  $\beta$  wird dabei in der Regel ein Wert von 50 % vorgeschlagen [44]. An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, dass für die Beurteilung einer analytischen Messmethode und insbesondere für die Angabe von Analysenergebnissen [45] die Erfassungsgrenze, für die kleinere  $\beta$ -Werte von meist 5 % veranschlagt werden, und die Bestimmungsgrenze, bei der eine vorgegebene Messpräzision eingehalten werden muss, ebenfalls von Bedeutung sind.

Bei der Berechnung der Nachweisgrenze wird also ein kritischer Messwert  $y_k$  festgelegt, aus dem sich dann über eine Kalibrierung eine Gehaltsgröße ergibt.

Wie erwähnt, ist die Voraussetzung von  $y_k$ , dass dieses größer ist als das Blindwertrauschen. Von Heinrich Kaiser [37] stammt die weit bekannte Forderung (Gl. 2.8), dass der kritische Messwert abzüglich des Blindwertmittelwertes mehr als das Dreifache dessen Standardabweichung betragen müsse. Die Rauschamplitude wird dabei gleichsam als die sechsfache Standardabweichung angenommen.

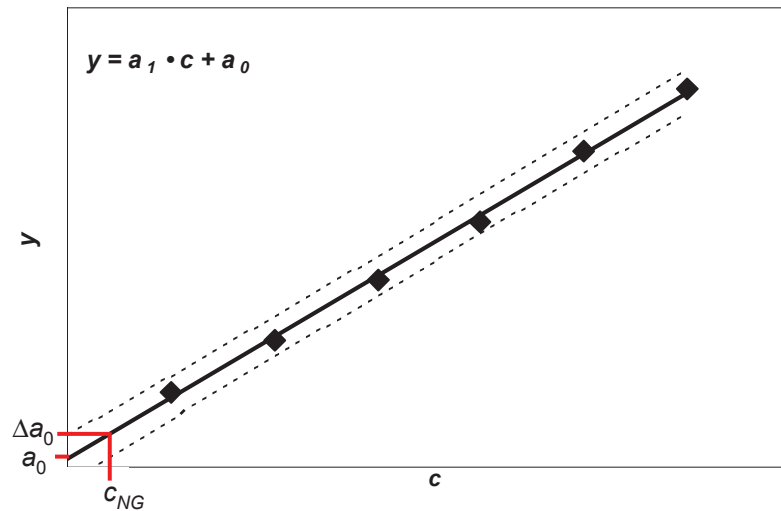
$$y_k = \bar{y}_B + 3 \cdot s_B \quad \text{Gl. 2.8}$$

Dies stellt jedoch nur eine grobe Abschätzung dar. Der Faktor „3“ wird besser durch ein Quantil der  $t$ -Verteilung ersetzt. Weiterhin sollte, wie erwähnt, auch die Zahl der Wiederholmessungen in die Berechnung mit einfließen [46]. Als Faktoren  $k$  werden deshalb auch Zahlen wie  $2, 2\sqrt{2}, 3\sqrt{2}$  [47] oder  $3\sqrt{2/N_w}$  [33] vorgeschlagen.

Wird der kritische Messwert in die Kalibrierfunktion eingesetzt (Gl. 2.9), erhält man unter Annahme dass  $\bar{y}_B = a_0$  die Konzentration an der Nachweisgrenze (Gl. 2.10).

$$y = a_1 \cdot c + a_0 \quad \text{Gl. 2.9}$$

$$c_{NG} = \frac{3 \cdot s_B}{a_1} \quad \text{Gl. 2.10}$$



**Abb. 2.3** Sechs Kalibrierpunkte mit Ausgleichsgerade der Funktion  $y = a_1 \cdot c + a_0$ , in rot gekennzeichnet der Ordinatenabschnitt  $a_0$ , der zugehörige Vertrauensbereich  $\Delta a_0$  sowie die daraus resultierende Konzentration an der Nachweisgrenze  $c_{NG}$  nach DIN 43645 [48]

Bei der Berechnung der NG über die Kalibriergeradenmethode der DIN 32645 [48] hingegen wird das Rauschen nicht direkt gemessen. Als mittleres Rauschen wird der Ordinatenabschnitt  $a_0$  geschätzt. Somit geht man davon aus, dass Nettosignale größer sein müssen als der Vertrauensbereich  $\Delta a_0$  des Ordinatenabschnitts, um mit einer statistischen Sicherheit von  $\alpha$  signifikant vom Blindwert unterschieden werden zu können [49]. Der Vertrauensbereich kann aus den Kalibrierkenngrößen berechnet werden (Gl. 2.11). Der kritische Messwert  $y_k$  für das Bruttosignal  $y_A$  ist dann die Summe aus Ordinatenabschnitt und zugehörigem Vertrauensbereich:  $y_k = a_0 + \Delta a_0$ .

$$\Delta a_0 = s_{y,c} \cdot t_{N_K - 2, \alpha} \cdot \sqrt{\frac{1}{N_W} + \frac{1}{N_K} + \frac{\bar{c}^2}{Q_{cc}}} \quad \text{Gl. 2.11}$$

Die Nachweisgrenze ergibt sich folglich durch Einsetzen des kritischen Messwertes in die Kalibrierfunktion (Gl. 2.12) [50]. Grafisch lässt sich das so veranschaulichen, dass auf Höhe des kritischen Messwertes der zugehörige Konzentrationswert gefunden wird (Abb. 2.3).

$$c_{\text{NG}} = \frac{s_{y,c}}{a_1} \cdot t_{N_K-2,\alpha} \cdot \sqrt{\frac{1}{N_W} + \frac{1}{N_K} + \frac{\bar{c}^2}{Q_{cc}}} \quad \text{Gl. 2.12}$$

Es sind allerdings noch weitere Methoden zur Berechnung der Nachweisgrenze möglich. Unter anderen ist der Bezug auf das tatsächliche Rauschen denkbar, wie es in der direkten Methode nach DIN 32645 genutzt wird.

In der Chromatographie wird sehr häufig eine Abschätzung der Nachweisgrenze über das Signal-Rausch-Verhältnis getroffen [51-53]. Dazu werden Proben bekannter Analytkonzentration, die im Bereich der Nachweisgrenze liegen, vermessen und das Signal-Rausch-Verhältnis bestimmt. Unter der Voraussetzung, dass das  $\text{SNR} > 3$  für den Nachweis gelten soll (entspricht dem Kaiser-Kriterium nach Gl. 2.8, da das SNR als Quotient von Nettosignal und Standardabweichung des Blindwertes angegeben wird), wird die Konzentration der Probe als Nachweisgrenze angegeben, durch die das kleinste SNR über 3 erhalten wird.

Die Berechnung kann jedoch auch über das Peak-zu-Peak-Rauschen erfolgen [41, 47]. Wenn man von der Grundidee der Nachweisgrenze und der für diese Arbeit festgelegten Definition des Rauschens ausgeht, muss das Nettosignal  $y_{\text{net}}$  mindestens halb so groß sein wie  $R_{\text{PP}}$ . Nur dann wird das Analytsignal mit einem Signifikanzniveau  $< 1\%$  vom Rauschen unterschieden. Durch Einsetzen in die Kalibrierfunktion erhält man die Formel zur Berechnung der Nachweisgrenze  $c_{\text{NG}}$  (Gl. 2.13). Dabei wird vorausgesetzt, dass der Ordinatenabschnitt dem mittleren Blindwert entspricht [29, 48]. Somit hängt die Nachweisgrenze nur vom Peak-zu-Peak-Rauschen und der Empfindlichkeit des Messverfahrens ab.

$$c_{\text{NG}} = \frac{R_{\text{PP}}}{2 \cdot a_1} \quad \text{Gl. 2.13}$$

Mit dieser Methode ist ein direkter Vergleich von Rauschen und kleinstmöglicher Konzentration durchführbar. Bei der Kalibriergeradenmethode hingegen hängt die Nachweisgrenze auch wesentlich von der Streuung der Kalibrierpunkte um die Ausgleichsgerade ab,



was nicht ausschließlich auf weißes Rauschen zurückzuführen ist. Falls nicht anders angegeben, beziehen sich alle in dieser Arbeit angegebenen Nachweisgrenzen auf Gl. 2.13.

Bei allen Methoden zur Abschätzung der Nachweisgrenze ist jedoch eines zu beachten: Die Auswertung von Analysensignalen erfolgt bei vielen Techniken über Peakflächen, da diese Größen robuster sind als die Peakhöhen. Dies wird in der Literatur so vorgeschlagen. Selbstverständlich ist auch eine Kalibrierung über Flächen möglich, allerdings ist die Beurteilung des unteren Arbeitsbereichs damit erschwert bzw. sogar unmöglich [54]. Das Rauschen wird schließlich immer in Form einer Größe  $y$  angegeben, nicht als  $(y \cdot x)$ , auch wenn es auf eine Grundlinie oder -fläche bezogen wird. Somit kann auch keine Fläche als Messwert auf das Rauschen bezogen werden, zumindest nicht in dem Sinne, dass Grenzwerte für den Signalnachweis angegeben werden können. Die Peakfläche hängt schließlich ganz entscheidend von der Länge der zu Grunde liegenden Basislinie in  $x$ -Richtung ab. Je nachdem, von welchem Punkt  $x_1$  bis zu welchem Punkt  $x_2$  integriert wird, kann auch die Größe der Fläche beeinflusst werden. Dies ist bei der Auswertung von Analytsignalen weniger entscheidend, da in diesen Fällen der Beginn und das Ende des Peaks recht gut abgeschätzt werden kann, bzw. der Einfluss des integrierten Rauschens auf die Gesamtfläche gering ist.

Da bei vorliegendem Grundrauschen allerdings kein Peak vorhanden ist, sind die Integrationsgrenzen unklar. Theoretisch denkbar wäre, wie es in der Atomabsorptionsspektrometrie mit elektrothermischer Atomisierung geschieht, über die gesamte Signallänge  $X$  zu integrieren, doch erscheint auch das als nicht sehr sinnvoll.

Auf keinen Fall kann die Nachweisgrenze aus dem Peak-zu-Peak-Rauschen berechnet werden, wenn die Kalibrierung über Peakflächen erfolgt ist. Aus diesem Grund werden in dieser Arbeit sämtliche Analytpeaks über ihre Höhe ausgewertet.

## 2.2 Analytische Messmethoden

Nachdem im vorherigen Kapitel der Einfluss des Rauschens auf Messsignale allgemein beschrieben worden ist, sollen nun die für Messungen im Rahmen dieser Arbeit genutzten Methoden kurz dargestellt werden, besonders in Hinblick auf die entstehenden Signalkurven. Dies erfolgt zunächst für die Flüssigkeitschromatographie, da diese zusammen mit der Gaschromatographie eine der wichtigsten analytischen Methoden ist, die in nahezu allen

größeren Laboratorien eingesetzt wird. Die von dieser Arbeit abgeleiteten Rückschlüsse können auf Grund der ähnlichen Signalkurven auch für die Gaschromatographie und ebenso für typische Methoden der anorganischen Analytik wie der Atomabsorptionsspektrometrie mit elektrothermischer Anregung, der Optischen Emissionsspektrometrie, sowie der Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma angenommen werden, und somit für wesentliche Methoden der Umweltanalytik. Die Voltammetrie, die vorwiegend in der Ultrapurenanalytik und zur einfachen Unterscheidung einzelner Spezies von Metallen genutzt wird, stellt wegen der dort häufig auftretenden stark veränderlichen Basislinie eine besondere Herausforderung für den Einsatz von Transformationsmethoden dar. Als drittes bietet sich beim Entrauschen von Spektren der High-Resolution-Continuum-Source-Atomabsorptionsspektrometrie die Möglichkeit, die zwei- und dreidimensionale Wavelet-Transformation hinsichtlich ihres Entrauschungsvermögens zu vergleichen.

### **2.2.1 Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma**

Ziel der Chromatographie ist es, Stoffgemische so aufzutrennen, dass darin enthaltene Analyten einzeln nachgewiesen und quantifiziert werden können. Dies geschieht dadurch, dass sich die Analyten auf Grund ihrer spezifischen Eigenschaften unterschiedlich in der stationären Phase des Säulenmaterials und der mobilen Phase des Eluenten verteilen [55]. Das Stoffgemisch wird dabei zusammen mit der mobilen Phase auf die Säule gegeben. Darin kommt es zu Wechselwirkungen des Analyten sowohl mit der mobilen als auch mit der stationären Phase. Die Verweilzeit in der stationären Phase ist je nach Stoffeigenschaft des einzelnen Analyten unterschiedlich lang. Dadurch kommen diese nicht gleichzeitig am Ende der Säule an, und damit am Detektor, wodurch das Stoffgemisch letztendlich aufgetrennt ist [56].

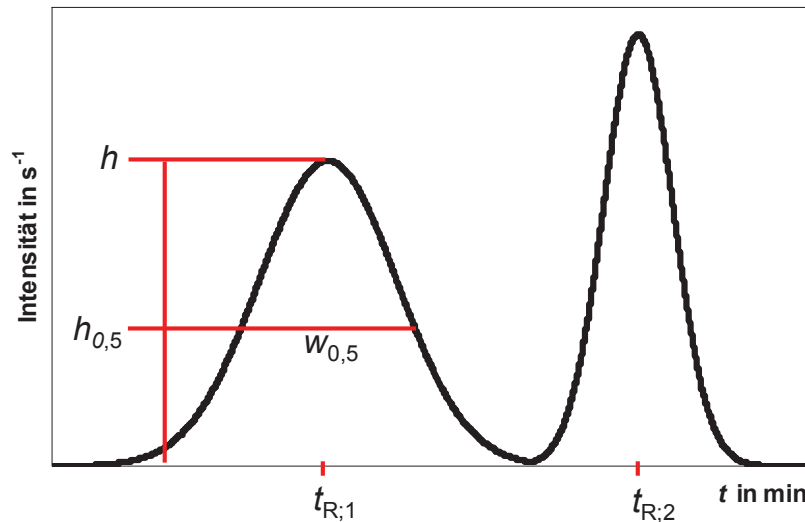
Umgesetzt ist das Trennprinzip in Form von Gas- oder Flüssigkeitschromatographie, wobei letztere sehr häufig in Form der verbesserten Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) zum Einsatz kommt [57]. Bei der Optimierung einer Methode kommt es darauf an, die richtige Kombination von stationärer und mobiler Phase zu wählen, wobei es bei letzterer im Fall der HPLC möglich ist, entweder eine isokratische Zusammensetzung des Eluenten einzusetzen, oder diesen mit bestimmtem Gradienten während der Analysenzeit zu ändern [39].

Unter den, nach der eigentlichen Trennung, eingesetzten Detektoren gibt es eine große Auswahlmöglichkeit. Für die HPLC spezifisch sind unter anderem UV-, Fluoreszenz- oder amperometrische Detektoren, aber auch die Messung des Brechungsindex oder der Leitfähigkeit. Gerade in modernen Laboratorien wird die Massenspektrometrie (MS) als Detektor eingesetzt. Dabei besteht die Herausforderung, das hohe Lösungsmittelvolumen der HPLC mit der Voraussetzung der MS, unter Vakuumbedingungen zu arbeiten, in Einklang zu bringen. Dafür sind spezielle Schnittstellen notwendig [39].

In der ICP-MS, d.h. bei Verwendung eines induktiv gekoppelten Plasmas (ICP) als Ionisierungsquelle, gelangt die Lösung mit dem Analyten über ein Zerstäubersystem in das Massenspektrometer. Häufig angewendet wird dabei ein Cross-Flow-Zerstäuber, bei dem die Lösung am Ende eines Schlauches auf einen rechtwinklig dazu angeordneten Gasfluss trifft, wodurch sie in feinste Tröpfchen zerteilt wird. Nach Abtrennung der großen Aerosoltröpfchen gelangen wenige Prozent der Analysenlösung in das Plasma [58].

Die Plasmafackel ist dabei so konzipiert, dass durch drei konzentrische Rohre von innen nach außen als Zerstäubergas, Hilfsgas und Plasmagas Argon geleitet wird. Das Argonplasma wird durch einen Hochspannungsfunken gezündet und mittels Hochfrequenz aufrechterhalten. Bei den dort herrschenden Temperaturen von 6000-10000 °C [59] werden die Analyten letztendlich ionisiert und gelangen über ein Interface in das häufig eingesetzte Quadrupol-Massenspektrometer. Der Zwischenschritt ist nötig, um das bei leichtem Überdruck arbeitende Plasma und den Massenanalysator, der im Vakuumbereich arbeitet, zu verbinden. Durch einen Quadrupol können Ionen nach ihrem Masse-Ladungs-Verhältnis getrennt werden. Dieses ist spezifisch für den jeweiligen Analyten, falls es nicht zu Interferenzen kommt. Diese müssen bei der Methodenoptimierung ausgeschlossen oder zumindest vermindert werden. Letztendlich gelangen die Ionen auf einen Sekundärelektronenvervielfacher, an dem sie detektiert werden [39].

Trägt man die über den Detektor erhaltene Signalgröße (Intensität in  $s^{-1}$ ) gegen die Elutionszeit auf, erhält man ein Chromatogramm (Abb. 2.4). In diesem sind bei ausreichender Trennung Peaks zu sehen, die den einzelnen Analyten zugeordnet werden können. Im Idealfall haben diese die Form von Gauß-Kurven. In das Chromatogramm eingezeichnet sind für die HPLC wichtige Kenngrößen.



**Abb. 2.4** Beispiel eines Chromatogramms mit zwei Peaks der Retentionszeiten  $t_{R;1}$  und  $t_{R;2}$ , für den ersten Peak mit Höhe  $h$  und Halbwertsbreite  $w_{0,5}$  bei halber Höhe  $h_{0,5}$

Zum einen kennzeichnen die Retentionszeiten  $t_{R;1}$  und  $t_{R;2}$  die Lage der beiden Peaks. Wichtig zur Beurteilung der Trennleistung sind jedoch die relative Lage zueinander und die Breite der Peaks. Dies kann beschrieben werden durch die Auflösung  $R$  (Gl. 2.14) [60].

$$R = \frac{t_{R;2} - t_{R;1}}{w_{0,5;1} + w_{0,5;2}} \quad \text{Gl. 2.14}$$

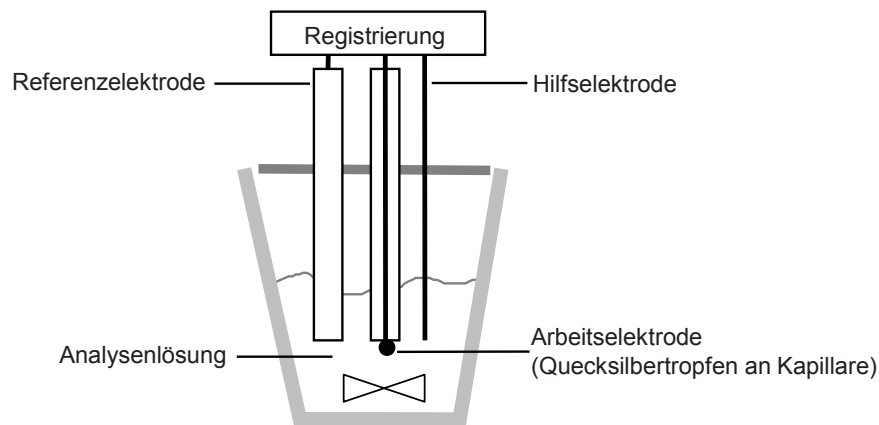
Die Halbwertsbreiten  $w_{0,5;1}$  und  $w_{0,5;2}$  werden dabei bei halber Höhe  $h_{0,5}$  der jeweiligen Peaks abgelesen. Nur für  $R > 1,5$  liegt eine vollständige Trennung der beiden Peaks vor, ansonsten kommt es zu Überlagerungen, wodurch Analyten nicht mehr ohne weiteres nebeneinander nachgewiesen werden können [61].

Auf Grund der Messzeit von einigen Minuten können Chromatogramme ausreichend hoch aufgelöst erhalten werden. Das heißt, es stehen genügend Datenpunkte zur Anwendung von Methoden der Signalbehandlung zur Verfügung.

### 2.2.2 Inverse Voltammetrie

Die Voltammetrie (von „Volt“ und „Ampere“) ist eine elektrochemische Analysenmethode, bei der die Stromstärke in Abhängigkeit einer vorgegebenen Spannungsänderung ge-

messen wird. Dies wird gerätetechnisch realisiert, indem Elektroden in die Analysenlösung eintauchen (Abb. 2.5).

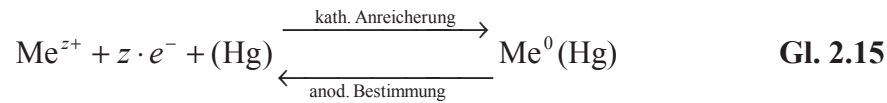


**Abb. 2.5** Skizze einer voltammetrischen Messzelle mit Quecksilbertropfen als Arbeitselektrode

Obwohl für Messungen von Redoxprozessen nur zwei Elektroden notwendig wären, werden moderne Apparaturen als Drei-Elektroden-Anordnung gebaut, da sonst durch den Ohmschen Spannungsabfall in der Lösung die Lage von Halbstufen- oder Peakpotenzialen verfälscht würden [62]. Hilfselektroden sind heute meist aus Platin, als Referenzelektroden kommen solche 2. Art, wie Kalomel- oder Silber-Silberchlorid-Elektroden, zum Einsatz. Als Arbeitselektrode wurde durch Jaroslav Heyrovský der über eine Kapillare mit dem Schaltkreis verbundene Quecksilbertropfen eingeführt. Wird dieser in Form einer sich ständig erneuernden, tropfenden Elektrode verwendet, spricht man vom Spezialfall der Polarographie [55].

Um das Nachweisvermögen gegenüber Polarographie und direkter Voltammetrie zu erhöhen, wurden inverse Methoden entwickelt, die mit einer Voranreicherung beginnen. Dies ist insbesondere in Biowissenschaften und der Umweltanalytik notwendig, da die meisten Analyten dort nur in sehr geringer Konzentration, d.h. im Spuren- bis Ultraspurenbereich vorliegen. Möchte man Metallionen analysieren, ist die Verwendung der DPASV (differential pulse anodic stripping voltammetry) in der Regel vorzuziehen. Die Quecksilbertropfelektrode erneuert sich dabei nicht ständig, sondern bleibt als hängender Tropfen bestehen. Durch Anlegen eines Elektrolysepotenzials, das etwa 200 mV negativer sein sollte als das zu erwartende Peakpotenzial, werden einige der in Lösung vorliegenden Metallionen an der Arbeitselektrode kathodisch reduziert (Gl. 2.15). Die Atome werden, je

nach Stoffeigenschaft, als Film auf dem Quecksilbertropfen abgelagert, oder bilden – wie z.B. Cadmium, Blei und Zink – mit dem Quecksilber Amalgamverbindungen [62].



Die Elektrolyse ist dabei niemals quantitativ, im Gegenteil. Sowohl die direkte als auch die inverse Voltammetrie stellen in der Ordnung der elektrochemischen Analysenmethoden solche mit vernachlässigbarem Stoffumsatz dar. Deshalb sind Wiederholbestimmungen innerhalb einer Messzelle möglich [38].

An die Voranreicherung schließt sich der Bestimmungsschritt (Stripping) als eigentliche Messung an. Dabei wird der metallische Analyt wieder oxidiert, es tritt also die anodische Rückreaktion auf (Gl. 2.15). Um dies zu ermöglichen, wird die angelegte Spannung kontinuierlich geändert. Bei Nutzung des Differenz-Puls-Modus zur Ermöglichung geringer Nachweisgrenzen wird dabei die lineare Spannungsänderung durch kleine, gleichbleibende Spannungspulse  $\Delta U$  überlagert. Der Strom wird während jeden Pulses zweimal gemessen, am Anfang und am Ende, wenn ein günstigeres Verhältnis von gewünschtem Faraday-Strom und störendem Kapazitätsstrom festzustellen ist. Durch Auftragen der jeweiligen Differenzen dieser beiden Messungen gegen die vorgegebene Gleichspannung entstehen peakförmige Voltammogramme [63].

Die Lage des Peaks, gekennzeichnet durch das Peakpotenzial  $U_P$ , ist charakteristisch für den Analyten, entsprechend des jeweiligen Redoxpotenzials. Dieses unterscheidet sich jedoch vom Halbstufenpotenzial  $U_{0,5}$  klassischer Gleichstrom-Methoden (das in der Regel tabelliert ist) um die halbe Pulsamplitude (Gl. 2.16).

$$U_P = U_{0,5} - \frac{1}{2} \cdot \Delta U \quad \text{Gl. 2.16}$$

Auch in der Voltammetrie kann es zu Peaküberlagerungen kommen, wenn zwei Peakpotenziale zu dicht beieinander liegen ( $\Delta U_P < 150 \text{ mV}$ ), was in der Methodenoptimierung behoben werden muss [64].

Der Peakstrom  $I_p$ , der die Höhe des jeweiligen Peaks darstellt, kann in der Methodenoptimierung besonders durch die verwendete Größe des Quecksilbertropfens und die Anreicherungszeit gesteuert werden (Gl. 2.17)

$$I_p = k_{\text{DPASV}} \cdot z^{\frac{3}{2}} \cdot D^{\frac{1}{2}} \cdot g^{\frac{1}{2}} \cdot r_{\text{Hg}}^2 \cdot \frac{I_{\text{kA}}}{V_{\text{Hg}} \cdot z \cdot F} \cdot t_{\text{kA}}^2 \quad \text{Gl. 2.17}$$

mit:  $I_p$  Peakstrom,  $k_{\text{DPASV}}$  Konstante,  $z$  Elektronenzahl bei Oxidation oder Reduktion,  $D$  Diffusionskonstante des Analyten im Quecksilber,  $g$  Spannungsänderungsgeschwindigkeit,  $r$  Radius des Quecksilbertropfens,  $V$  Volumen des Quecksilbertropfens,  $I_{\text{kA}}$  Elektrolysestrom während der Anreicherung,  $F$  Faradaykonstante,  $t_{\text{kA}}$  Anreicherungsdauer

Typische Anreicherungszeiten liegen zwischen 60 und 300 s, da dabei ein gutes Nachweisvermögen erreicht wird [62], die Messung größerer Probenserien aber nicht erschwert wird. Die Anreicherung kann aber auch durchaus 60 min betragen [65].

Für eine optimale Messung muss weiterhin der Leitelektrolyt angepasst werden. Dieser hat die Aufgabe, Migrationsströme zu verhindern, damit der Analyt nur über Diffusionsvorgänge zur Arbeitselektrode gelangt. Außerdem wird durch ihn die Leitfähigkeit erhöht und damit der Ohmsche Spannungsabfall in der Analysenlösung verringert. Leitelektrolyten sind meist Halogenidsalze, oder auch Salz- oder Salpetersäure [66].

Vor Anreicherungs- und Bestimmungsschritt ist noch entscheidend, den Luftsauerstoff aus der Analysenlösung zu entfernen, da dieser bei Potenzialen von rund -1 und 0 V reduziert wird und das Grundrauschen der Messung noch erhöht. Um dies zu vermeiden, wird die Lösung mittels Inertgas (Argon oder Stickstoff) gespült [66].

Die Schrittweite der Spannungsänderung während des Bestimmungsschrittes kann (im Rahmen der Softwaresteuerung) beliebig eingestellt werden, sie hat kaum Einfluss auf die Messungen. Somit können vom Datenumfang her optimale Voltammogramme für die Signalbehandlung erhalten werden.

### 2.2.3 Atomabsorptionsspektrometrie mit elektrothermischer Atomisierung

Eine weitere, klassische Analysenmethode stellt die Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) dar, besonders für die Bestimmung von Metallen. Bei dieser macht man sich die grundlegenden Forschungsergebnisse von Bunsen und Kirchhoff zunutze, nach denen Atome Licht

diskreter und spezifischer Wellenlänge emittieren und bei derselben Wellenlänge absorbieren.

Dazu müssen die Analyten zunächst in den Gasraum überführt und atomisiert werden. Dies geschieht in den Schritten Verdampfen, Dissoziation von Salzen oder Molekülen und Reduktion im Fall von Metallionen als Analyt. Die nun frei vorliegenden Atome können durch eingestrahktes Licht angeregt werden. Unerwünscht ist hingegen die Ionisierung. Mögliche Atomisierungseinheiten stellen Flammen dar [39].

Bessere Nachweisgrenzen werden jedoch durch den Einsatz von Graphitrohröfen erzielt. Bei dieser so genannten elektrothermischen Atomisierung wird die Analysenlösung in einem Graphitrohr abgelegt, dessen Temperatur anschließend über eine Widerstandsheizung auf bis zu 3000 °C rasch erhöht wird. Dabei kann ein Temperatur-Zeit-Programm so vorgegeben werden, dass zunächst Matrixbestandteile abgetrennt werden, bevor der eigentliche Analyt atomisiert und die Messung vorgenommen wird. Außer bei der Messung selbst spült man den Atomisator mit Argon, um zum einen das Graphit so wenig wie möglich zu belasten und zum anderen, um die unerwünschten Matrixbestandteile komplett aus der Messküvette zu entfernen [55, 67]. Das und die längere Aufenthaltsdauer des Analyten im Graphitrohr sind entscheidende Vorteile gegenüber der Flammenatomisierung [39]. Eine weitere Besonderheit der Graphitrohröfen ist die Möglichkeit, in diese eine Plattform einzubauen. Diese hat eine sehr geringe Berührungsfläche mit dem eigentlichen Graphitrohr, wodurch der Analyt gleichmäßiger atomisiert werden kann.

Als Strahlungsquelle dienen in der klassischen AAS Hohlkathodenlampen oder elektrodenlose Entladungslampen, die das zu analysierende Element als Material enthalten. Somit emittiert die Strahlungsquelle Licht genau der Wellenlänge, die vom Analyten absorbiert werden kann. In der Weiterentwicklung zur High-Resolution-Continuum-Source-AAS (vgl. Abb. 2.6) wird hingegen eine Xenonkurzbogenlampe verwendet, die Strahlung mit kontinuierlichem Spektrum von ca. 190 bis 900 nm emittiert (deshalb „continuum source“). Somit erübrigt sich ein Wechsel von Hohlkathodenlampen, wenn verschiedene Analyten hintereinander bestimmt werden sollen. Weiterhin können dadurch auch Elemente analysiert werden, für die der Bau von Hohlkathodenlampen oder elektrodenlosen Entladungslampen nicht möglich ist, wie z.B. für die Halogene Fluor, Chlor und Brom [68, 69]. Durch Erzeugung eines sehr schmalen Plasmaflecks in der Nähe der Kathodenoberfläche ist bei der Xenonkurzbogenlampe weiterhin die Intensität 10- bis 100-fach größer als bei



elementspezifischen Lampen und zudem konstant über den gesamten Emissionsbereich. Damit zeigt sich der Vorteil gegenüber anderen Kontinuumsstrahlern, wie Deuteriumlampen. Außerdem werden durch die höhere Strahlungsintensität um Faktor 3-10 niedrigere Nachweisgrenzen erwartet als in der klassischen AAS [70].

Die Strahlung wird über optische Systeme durch die Atomisierungseinheit geleitet (Abb. 2.6), und kann dort vom Analyten teilweise absorbiert werden. Dabei tritt eine Lichtschwächung auf, die analog dem Lambert-Beerschen Gesetz beschrieben wird (Gl. 2.18) [71, 72]. Hierbei wird angenommen, dass die Zahl der sich im Strahlengang befindlichen Atome proportional zur Analytkonzentration in der Lösung ist.

$$\text{Ext} = -\ln \frac{\text{Int}}{\text{Int}_0} = \varepsilon \cdot c \cdot d \quad \text{Gl. 2.18}$$

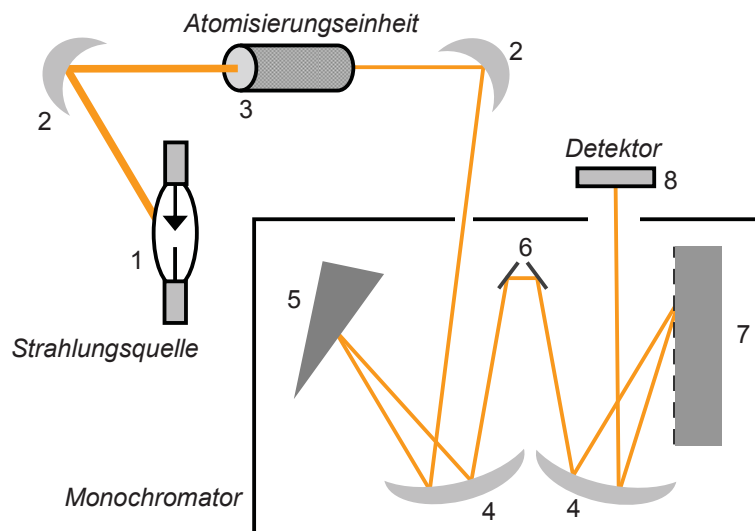
mit Ext Extinktion, Int Intensität des durchgelassenen Lichts,  $\text{Int}_0$  Intensität des einstrahlten Lichts,  $\varepsilon$  Extinktionskoeffizient,  $c$  Konzentration des Analyten,  $d$  Weglänge des Lichts durch die Atomisierungseinheit

Die im Spektrum dargestellte Extinktion ist somit direkt proportional zur Konzentration des Analyten, wobei der Extinktionskoeffizient  $\varepsilon$  wellenlängenabhängig ist.

Das durch die Atomisierungseinheit durchgelassene Licht durchläuft vor dem Detektor noch einen Monochromator. Nach dem Eintrittsspalt befinden sich dort dispergierende Elemente wie Prismen oder Gitter, durch deren Hilfe die Strahlung aufgespalten werden kann. Durch den Austrittsspalt trifft dann nur die für die Messung spezifische Strahlung auf den Detektor, störende Molekülbanden sowie Streulicht werden ausgeblendet [39].

Da, anders als bei Verwendung von elementspezifischen Strahlungsquellen, durch die Xenonkurzbogenlampe in der HR-CS-AAS ein kontinuierliches Spektrum ausgesendet wird, war auch die Weiterentwicklung zu einem hochauflösenden Monochromator notwendig (deshalb „high-resolution“). Dies wurde als Doppelmonochromator verwirklicht (Abb. 2.6). Nach dem Eintrittsspalt trifft die Strahlung zunächst auf ein Prisma für eine grobe Aufspaltung. Ein Teil der Strahlung gelangt dann über einen Umlenkspiegel mit Zwischenspalt auf ein Echellegitter, das für die Hochauflösung verantwortlich ist. Die einzelnen Monochromatoren befinden sich dabei zueinander in Littrow-Aufstellung. Die Auflösung des Doppelchromators lag für die Prototypen bei 140000 [70] und konnte für aktuelle Modelle auf bis zu 185000 erhöht werden. Das heißt, auf dem Detektor kann im

Fall der Cadmium-Analysenlinie von 228,8 nm ein Spektrum mit der Auflösung von rund 1,2 pm pro Datenpunkt abgebildet werden.



**Abb. 2.6** Skizze der HR-CS-AAS bestehend aus 1) Xenonkurzbogenlampe, 2) elliptische Spiegel, 3) Atomisierungseinheit, z.B. Graphitrohrföfen, 4) Parabolspiegel, 5) Prisma, 6) Umlenkspiegel, 7) Echellegitter und 8) CCD-Detektor [73]

Während in der klassischen AAS Sekundärelektronenvervielfacher als Detektoren eingesetzt werden, wird dieser in der HC-CS-AAS als CCD-Zeile verwirklicht. Diese besteht aus insgesamt 512 Pixeln, wobei nur 200 für die Aufnahme von Spektren genutzt werden. Da alle Pixel gleichzeitig belichtet werden, wird zu jedem Zeitpunkt der Messung nicht nur die Information über *eine* Extinktion gespeichert, sondern über 200 Extinktionen als Funktion verschiedener Wellenlängen.

Das ermöglicht die Darstellung von dreidimensionalen Spektren, bei denen die Extinktion eine Abhängige von Zeit und Wellenlänge ist. Der Vorteil dabei ist nicht nur, die optimale Wellenlänge zur Auswertung wählen zu können (Maximum der dreidimensionalen Peaks), sondern dass auch die spektrale Umgebung der Analysenlinie sichtbar wird. Interferenzen können dadurch erkannt und durch Referenzspektren rechnerisch eliminiert werden [74, 75].

Für die Auswertung stehen damit auch nicht nur, wie in der AAS üblich, Peakflächen zur Verfügung, sondern Peakvolumina. Diese werden als „peak volume integrated absorbance“  $A_{\lambda, \text{int}}$  mit der Einheit ( $\text{s} \cdot \text{pm}$ ) angegeben [76]. Gesteuert wird das Peakvolumen über die einbezogenen Pixel in Wellenlängen-Richtung, d.h. ob nur über den von der Auflösung her vorgegebenen Bereich von ca. 1,2 pm die Extinktionen bestimmt werden, oder als Summe über den Bereich von 3,7 pm (3 Pixel), 6,2 pm (5 Pixel) oder entsprechend mehr. Auf

Grund der am Ende des Kapitels 2.1.2 angesprochenen Problematik wird jedoch in dieser Arbeit nur über einen Pixel, d.h. über reine Peakhöhen ausgewertet.

Durch die sehr kurze Analysenzeit in der HR-CS-AAS von wenigen Sekunden und die Begrenzung der Pixelzahl auf der CCD-Zeile bestehen klassische zweidimensionale Spektren aus relativ wenigen Datenpunkten (meist 200). Für die Auswertung von dreidimensionalen Spektren stehen dann jedoch Datenmatrizen mit bis zu 40000 Datenpunkten zur Verfügung.

### 2.3 Mathematische Methoden der Signalbehandlung

Wie beschrieben, enthalten Messsignale nicht nur Information über die Art und Konzentration des Analyten, sondern werden auch durch störendes Rauschen überlagert, welches das Nachweisvermögen herabsetzt.

Um ein besseres Signal-Rausch-Verhältnis zu erreichen, ist zum einen die Signalakkumulation möglich. Das bedeutet, die Messung wird einige Male wiederholt und jeweils der Mittelwert der erhaltenen Signalgrößen berechnet. Falls weißes Rauschen vorliegt, kann dadurch das SNR proportional zur Wurzel der Zahl an Wiederholmessungen verbessert werden [35]. Bei den in dieser Arbeit vorgestellten analytischen Methoden ist dies allerdings weniger gut möglich, da die Analysenzeiten hoch sind (HPLC und DPASV) oder die Probe bei der Messung irreversibel verändert wird (AAS).

Eine weitere Möglichkeit, das Rauschen zu entfernen, stellen nach den Messungen eingesetzte mathematische Methoden der Signalbehandlung dar. Dies können digitale Filter sein, die bei modernen, computergestützten Analysenmethoden meist direkt in die Software implementiert sind. In der Regel werden dabei sehr einfache Filter eingesetzt, wie Mittelwerts- oder Medianfilter, die Anpassung durch Polynome (Savitzky-Golay-Filter) oder das rekursive Kalman-Filter [77].

Beim Mittelwertsfilter werden kleine Fenster von wenigen Datenpunkten (Filterbreite  $2m + 1$ ) definiert, innerhalb dessen der Mittelwert aus allen Signalgrößen berechnet wird (Gl. 2.19). Dabei werden die Daten aber sehr stark geglättet, besonders bei zu großer Filterbreite. Besser sind deshalb Savitzky-Golay-Filter, bei denen eine Wichtung der Datenpunkte durch Anpassung eines Polynoms vorgenommen wird. Allgemein ist beim Einsatz

von Filtern zu beachten, dass die Filterbreite nur etwa der Halbwertsbreite des Analytpeaks entsprechen sollte, um Daten nicht unnötig zu verzerren [39].

$$y_i' = \frac{1}{2m+1} \sum_{j=-m}^m y_{i+j} \quad \text{Gl. 2.19}$$

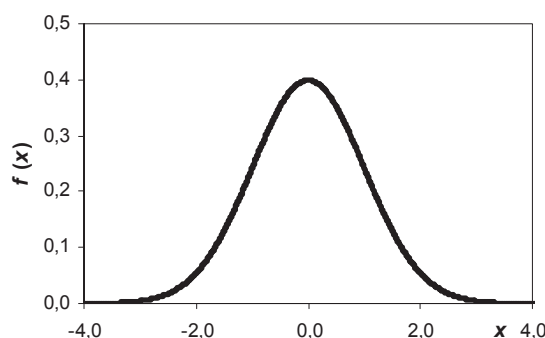
Besser als Filter sind jedoch in der Regel Transformationsmethoden zum Entrauschen geeignet [78]. Beispiele hierfür sind die klassischen Fourier- oder Hadamard-Transformationen sowie die Wavelet-Transformation. Nach der Transformation werden entsprechende Filterfunktionen effektiver eingesetzt. Auf Grund des Faltungstheorems können transformierte Filterfunktionen mit den ebenfalls transformierten Signalfunktionen multipliziert werden, was einer Verringerung des Rechenaufwandes entspricht.

Im Folgenden sollen die in dieser Arbeit verwendeten drei Methoden der Signalbehandlung etwas näher dargestellt werden. Diese wurden ausgewählt, da zum einen für die Faltung mit Gauß-Kurven ein relativ geringer Rechenaufwand nötig ist. Durch die Verwendung von Computern bei der Berechnung scheint das zwar ein vernachlässigbares Argument zu sein, da aber gleichzeitig die Datenmengen von Messsignalen sehr groß werden können, ist es weiterhin wichtig, Rechenzeiten zu minimieren. Die Fourier-Transformation andererseits ist eine insbesondere in der analytischen Chemie sehr gut etablierte Methode, wohingegen die Wavelet-Transformation zwar in vielen Fällen als deren Weiterentwicklung angesehen wird, aber ihre Anwendung dennoch nicht weit verbreitet ist. Das ist insofern verwunderlich, als sie in anderen Gebieten, wie der Bildverarbeitung, insbesondere zur Datenkomprimierung sehr erfolgreich eingesetzt wird.

Die Durchführung aller Faltungen und Transformationen erfolgten mittels des Computerprogramms MATLAB (v.6.5.0, The MathWorks Inc., München). Für die Wavelet-Transformation stand die MATLAB-Wavelet-Toolbox zur Verfügung. Die weitere Auswertung der Signalkurven, d.h. Berechnung von Peakhöhen, Kalibrierfunktionen, Signal-Rausch-Verhältnissen und Nachweisgrenzen, erfolgte in Excel (11.0/2003, Microsoft Corporation).

### 2.3.1 Faltung mit Gauß-Kurven

Gauß-Kurven können als spezielle Filter genutzt werden, die sich zum Einsatz in der analytischen Chemie gut eignen. Grund dafür ist, dass sehr viele Peaks zumindest theoretisch Gauß-verteilt sind. Sie ähneln also den idealen Kurven (Abb. 2.7), sind dabei aber unter anderem von Rauschen überlagert.



**Abb. 2.7** Gauß-Kurve mit Mittelwert  $\mu = 0$  und Standardabweichung  $\sigma = 1$

Deshalb kann man die Methode der Kreuzkorrelationsanalyse zum Entrauschen nutzen. Die Kreuzkorrelationkoeffizienten  $\Omega$  (Gl. 2.20) stellen dabei allgemein die Verwandtschaft zweier Funktionen  $u(x)$  und  $v(x)$  als Funktion des Abstandes  $\xi$  dar.

$$\Omega_{uv}(\xi) = \lim_{X \rightarrow \infty} \frac{1}{2X} \int_{-X}^{+X} u(x) \cdot v(x - \xi) dx \quad \text{Gl. 2.20}$$

Das kann man sich bildlich so vorstellen, dass die Kurve der Funktion  $v(x)$  entlang der  $x$ -Achse bis zum Endpunkt  $X$  über die Kurve der Funktion  $u(x)$  geschoben wird. Je stärker die beiden Kurven an einem Punkt  $(x - \xi)$  korrelieren, desto höher ist der resultierende Funktionswert  $\Omega$ . Sind die beiden Funktionen völlig verschieden, ergibt sich für  $\Omega$  eine Konstante [31]. Schiebt man gedanklich eine Gauß-Kurve (Gl. 2.21) über eine Signalkurve, so ergibt sich der größte Wert, wenn die beiden Peaks direkt übereinander liegen. Liegt das Maximum der Gauß-Kurve (entspricht dem Mittelwert  $\mu$ ) jedoch im Rauschen, besteht kaum Korrelation. Somit wird in der Kreuzkorrelationsfunktion der Analytpeak abgebildet, das Rauschen jedoch nicht, wodurch die Signalkurve entrauscht erscheint.

$$f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{x-\mu}{\sigma}\right)^2} \quad \text{Gl. 2.21}$$

Eine Näherungsmöglichkeit für die Kreuzkorrelationsfunktion stellt für autoskalierte Werte die Berechnung über die Summe der Produkte der einzelnen Funktionen dar (Gl. 2.22). Heutzutage jedoch nutzt man meist den Weg über die Fourier-Transformation. Dabei müssen die Funktionen  $u(x)$  und  $v(x)$  in die jeweils Fourier-Transformierten umgewandelt werden. Nach Multiplikation der Fourier-Transformierten von  $u(x)$  mit der komplex Konjugierten der Fourier-Transformierten von  $v(x)$  erfolgt die Rücktransformation zur Kreuzkorrelationsfunktion  $\Omega_{uv}(\xi)$  [31].

$$\Omega_{uv}(\xi) = \frac{1}{X} \sum_{x=1}^{X-1} u(x) \cdot v(x - \xi) \quad \text{Gl. 2.22}$$

Ein entscheidender Parameter beim Entrauschen ist die Halbwertsbreite der verwendeten Gauß-Kurve und damit deren Standardabweichung  $\sigma$ . Die Halbwertsbreite  $w_{0,5}$  lässt sich direkt aus der mathematischen Funktion der Gauß-Kurve (Gl. 2.21) berechnen:

Das Maximum der Kurve ist dabei durch deren Lageparameter  $\mu$  gegeben. Somit ergibt sich deren Höhe durch Einsetzen in die Funktionsgleichung (Gl. 2.23).

$$f(\mu) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{\mu-\mu}{\sigma}\right)^2} = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \quad \text{Gl. 2.23}$$

Die Stellen  $x_1$  und  $x_2$ , bei denen die Gauß-Kurve die Hälfte ihrer vollen Höhe erreicht, lassen sich ebenfalls berechnen und hängen selbstverständlich sowohl von  $\mu$  als auch von  $\sigma$  ab (Gl. 2.24).

$$\frac{1}{2} \cdot \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{x-\mu}{\sigma}\right)^2} \Leftrightarrow x_{1,2} = \mu \pm \sigma\sqrt{\ln 4} \quad \text{Gl. 2.24}$$

Die Halbwertsbreite  $w_{0,5}$  ergibt sich schließlich als Differenz dieser beiden Stellen (Gl. 2.25), und beträgt rund das 2,35-fache der Standardabweichung  $\sigma$ .

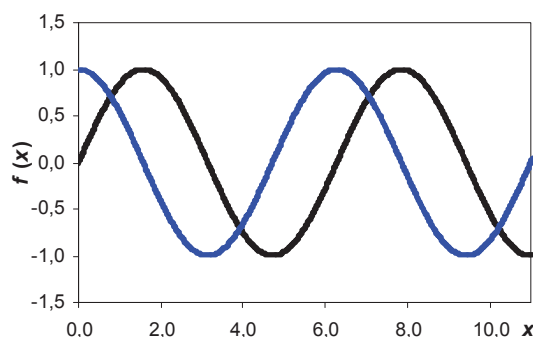
$$w_{0,5} = |x_1 - x_2| = 2\sqrt{\ln 4} \cdot \sigma \quad \text{Gl. 2.25}$$

Laut früherer Studien [79] ist die Halbwertsbreite der Gauß-Kurve so zu wählen, dass sie 60 % der des Analytpeaks beträgt, die Breite der Kurve aber keinesfalls überschreitet. Ansonsten werden die Peaks der Signalkurve ungünstig verbreitert.

Insgesamt erstrecken sich bisherige Untersuchungen allerdings häufig nur auf künstlich verrauschte Gauß-Kurven, die anschließend entrauscht werden oder auf periodische Funktionen [3-5]. Somit sind weitere Arbeiten zum Einsatz der Faltung mit Gauß-Kurven auf dem Gebiet der analytischen Chemie wünschenswert.

### 2.3.2 Fourier-Transformation

Eine klassische Transformation stellt die nach Jean Baptiste Joseph Fourier benannte dar. Bei dieser wird entsprechend der herkömmlichen Beschreibung eine zeitabhängige Funktion  $f(x)$  in eine frequenzabhängige Funktion  $\hat{f}(\omega)$  (Fourier-Transformierte) umgewandelt. Dies gilt natürlich auch für Signalkurven, deren unabhängige Variable auf eine zeitliche Änderung zurückgeführt werden kann, wie im Fall der Voltammetrie.



**Abb. 2.8** Sinus- (schwarz) und Cosinuscurve (blau)

Die Transformation geschieht durch Approximation mit Sinus- und Cosinustermen (Abb. 2.8), sodass eine Fourier-Reihe entsteht (Gl. 2.26). Das heißt, auch hier wird wieder nach einer Übereinstimmung der Signalkurve mit theoretischen Funktionen gesucht, jedoch nicht mit der Gauß-Kurve, sondern mit Sinus- und Cosinusfunktionen für verschiedene Vielfache der Grundfrequenz  $\omega$ . Diese ist über den Faktor  $2\pi$  proportional zur Länge der Signalkurve  $X$  (Gl. 2.27).

$$f(x) = \frac{1}{2}a_0 + \sum_{k=1}^{\infty} (a_k \cos kax + b_k \sin kax) \quad \text{Gl. 2.26}$$

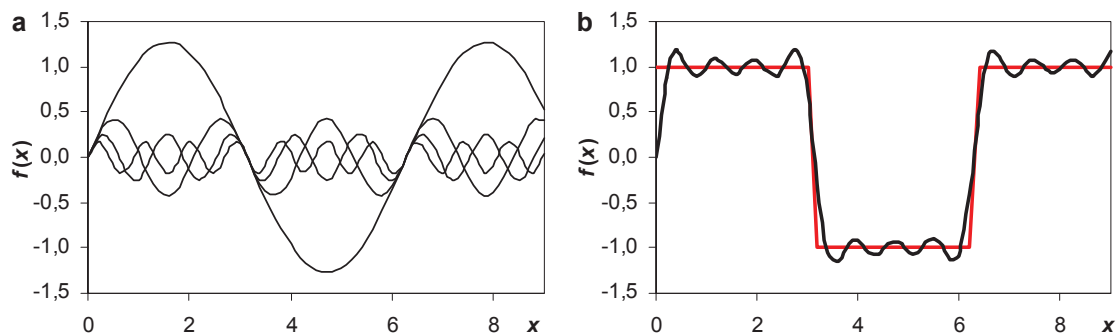
$$\omega = \frac{2\pi}{X}$$

Gl. 2.27

Entscheidend ist dabei die Berechnung der Fourier-Koeffizienten  $a_k$  und  $b_k$  (Gl. 2.28). Dieser Schritt wird als Entwicklung der Funktion in eine Fourier-Reihe bezeichnet [80].

$$a_k = 2 \int_0^1 f(x) \cos k\omega x dx \quad \text{und} \quad b_k = 2 \int_0^1 f(x) \sin k\omega x dx \quad \text{Gl. 2.28}$$

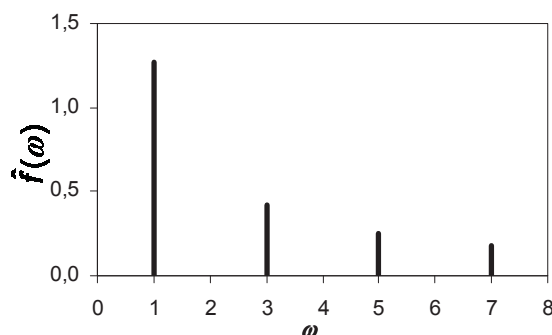
Anschaulich wird die Wirkungsweise der Fourier-Transformation (FT), wenn man betrachtet, dass sogar Rechteckfunktionen durch wenige Sinusterme nachgebildet werden können [81]. Wählt man eine Rechteckfunktion, die periodisch nur Werte von -1 und 1 annimmt (mit einer Periodizität von  $\pi$ ), so genügen bereits vier Sinusfunktionen um diese zu approximieren, d.h. näherungsweise dieselbe Kurve zu erzeugen (Abb. 2.9). In diesem Beispiel stellen die verwendeten Sinusfunktionen neben der Grundschwingung die dritte, fünfte und siebte Oberschwingung mit sukzessive verringerter Amplitude dar. Anhand des Beispiels wird auch klar, dass es besonders gut gelingt, periodische Signalfunktionen in eine Fourier-Reihe zu überführen, doch ist dies keine Bedingung oder Beschränkung.



**Abb. 2.9** a) Sinusfunktion mit drei Oberschwingungen unterschiedlicher Amplitude und b) Summe der Funktionswerte der vier Sinusfunktionen (schwarz) als Approximation eines Rechtecksignals (rot)

Als Ergebnis einer Fourier-Transformation erhält man ein Frequenzspektrum (Abb. 2.10), in dem die Amplituden als Funktion der Frequenzen dargestellt werden ( $\hat{f}(\omega)$ ). Dieses enthält dann dieselbe Information über die ursprüngliche Signalkurve wie diese selbst, nur eben nicht in der Zeit- sondern in der Frequenzdomäne.





**Abb. 2.10** Frequenzspektrum zu Abb. 2.9

Die Rücktransformation in die Zeitdomäne erfolgt dann durch die so genannte inverse Fourier-Transformation, die im Prinzip bereits durch Gl. 2.26 dargestellt wird, also durch Aufsummieren aller Sinus- und Cosinusterme.

Für die Durchführung der Fourier-Transformation von vorliegenden, diskreten, begrenzten Signalen, die man in der analytischen Chemie in der Regel als Messergebnis erhält, wird zur Berechnung auf den Algorithmus der diskreten FT zurückgegriffen [29]. Eine Möglichkeit dabei ist die Verwendung der schnellen FT (FFT), bei der die Fourier-Transformierte über Gl. 2.29 berechnet wird. Die Formel der Rücktransformation muss dann natürlich angepasst werden (Gl. 2.30) [35].

$$\hat{f}(\omega) = \frac{1}{X} \sum_{x=1}^X f(x) \cdot e^{-i\omega x} \quad \text{mit} \quad e^{-i\omega x} = \cos \omega x - i \sin \omega x \quad \text{Gl. 2.29}$$

$$f(x) = \sum_{\omega=1}^X \hat{f}(\omega) \cdot e^{i\omega x} \quad \text{Gl. 2.30}$$

Der Vorteil der FFT ist, dass die Summenbildung über Matrizen erfolgen kann. Dabei werden weitere Vereinfachungen getroffen und wiederholende Berechnungen vermieden, wodurch der effektive Rechenaufwand deutlich abnimmt [82-84]. Dies ist besonders wichtig bei Messsignalen großer Datenmenge.

Wie beschrieben verändert man durch die FT den Informationsgehalt der Signalkurve nicht, man transformiert diese lediglich in die Frequenzdomäne. Somit ist auch das Rauschen noch nicht verschwunden. Allerdings ist dieses in der Regel von hoher Frequenz, die eigentlichen Signale sind jedoch mittel bis nieder frequent. Diese Eigenschaft kann man

mittels einfacher Filter im Frequenzbereich ausnutzen. Im Prinzip muss nur der hochfrequente Anteil abgeschnitten werden. Dies kann durch Tiefpassfilter erfolgen, mit denen die Fourier-Transformierte multipliziert wird. Im einfachsten Fall besteht das Filter aus den Ziffern 1 und 0, sodass die ersten Werte für  $\hat{f}$  erhalten bleiben, die späteren Werte jedoch null gesetzt werden.

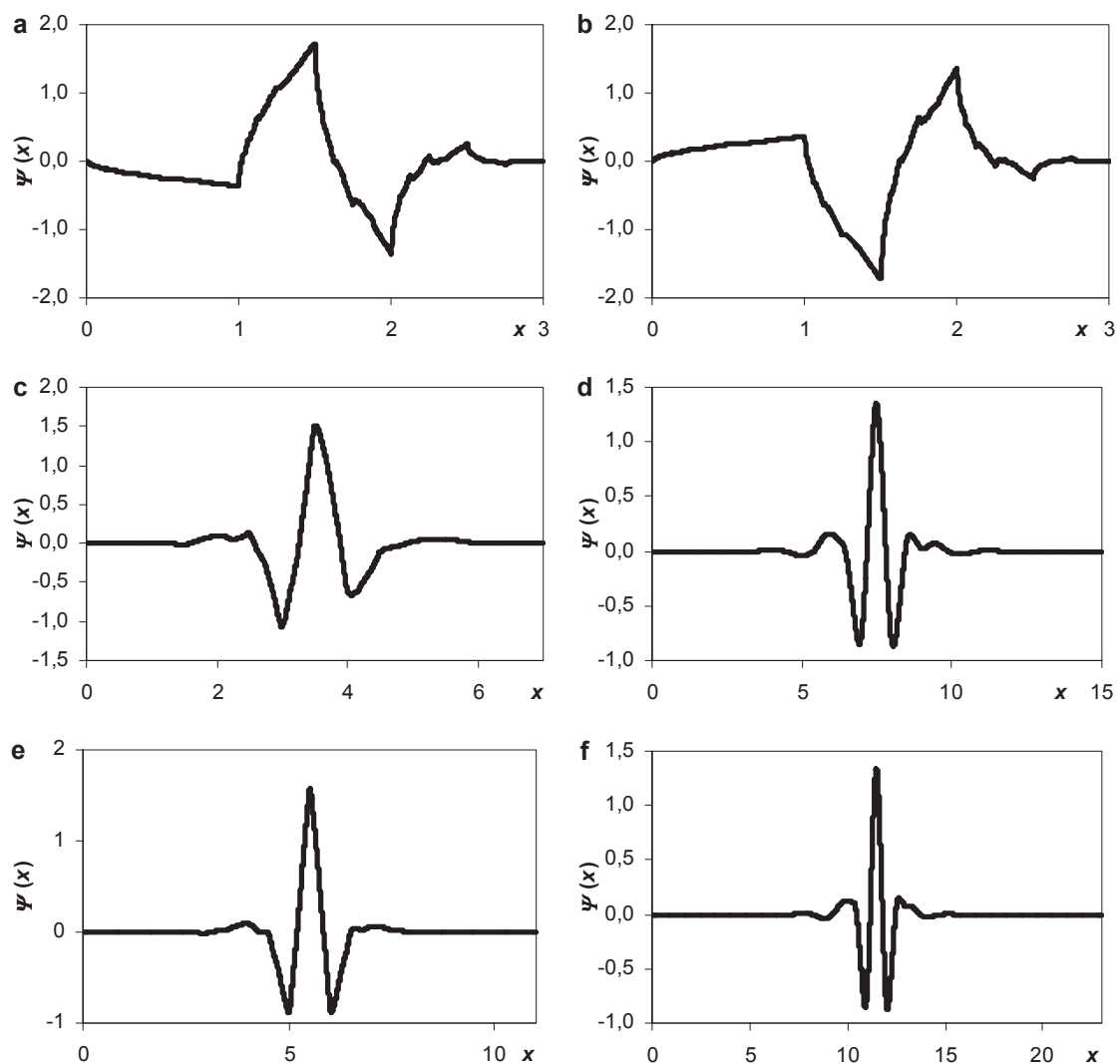
Entscheidend dabei ist, an wie vielen Positionen die Filterfunktion mit dem Wert 1 besetzt ist. Dies wird durch die Grenzfrequenz  $\nu_0$  (*cut-off frequency*) charakterisiert. Nach der Rücktransformation ist die Signalkurve entrauscht [3-5]. Allerdings darf die Grenzfrequenz nicht zu klein gewählt werden, um die Charakteristika der Peaks, insbesondere deren Höhe, aber auch die Auflösung zu erhalten.

Trotz des weitgehenden Einsatzes der Fourier-Transformation zeigt diese auch Nachteile. So ist es nur möglich, eine Funktion entweder zeit- oder frequenzabhängig darzustellen. Auch ist die FT auf Grund der Anwendung von Sinus- und Cosinustermen auf das gesamte Signal weniger gut in der Lage, sich zwar schnell aber nicht periodisch ändernde Signalkurven zu erfassen. Eine Möglichkeit, diese Probleme zu beheben, stellt die gefensterte FT dar, bei der die Transformation nicht in einem Schritt für das Gesamtsignal erfolgt, sondern abschnittsweise in kleinen „Fenstern“. Diese Methode gilt jedoch nur als Kompromiss in Bezug auf die Wiedergabe von Information aus Zeit- und Frequenzdomäne. Das heißt, es wird zwar sowohl Information darüber erhalten, welche Frequenzen in einem Signal auftreten, als auch wann, allerdings wird die Genauigkeit dieser Information durch die Größe des verwendeten Fensters beschränkt. Die Wahl des Fensters ist weiterhin für alle vorliegenden Frequenzen konstant, was für viele Signale, die transformiert werden sollen, von Nachteil ist [85]. Da die gefensterte FT somit noch keine optimale Verbesserung der zur Verfügung stehenden Transformationsmethoden darstellt, wird auf ihren Einsatz im Rahmen dieser Arbeit verzichtet.

### 2.3.3 Wavelet-Transformation

Eine weitere Möglichkeit, die Nachteile der FT auszugleichen, wurde durch die Entwicklung der Wavelet-Transformation (WT) realisiert. Diese wird auch als Transformationsmethode mit variabler Fenstergröße bezeichnet, was einen entscheidenden Vorteil gegenüber der gefensterten FT darstellt. Die WT ist im Vergleich zur FT eine noch recht junge Methode, sie wird im Wesentlichen erst seit den 1980er Jahren beschrieben.

Herzstück dabei sind die so genannten Waveletfunktionen oder kurz Wavelets. Diese haben die Form von kleinen Wellen (engl. Diminutiv: wave-let), wobei sie in der Breite begrenzt sind, d.h. sie konvergieren recht schnell gegen null (im Gegensatz zu den sich ins unendliche ausdehnenden Sinus- und Cosinusfunktionen). Der Mittelwert beträgt ebenfalls null. Weiterhin sind die meisten Vertreter asymmetrisch, was für die Algorithmen von Vorteil ist [82]. Es gibt eine recht große Auswahl an Waveletfunktionen, wobei auch weiterhin neue entwickelt werden [86, 87]. In Abb. 2.11 sind beispielhaft die  $\Psi$ -Funktionen für das Db2-Wavelet aus der Daubechies-Familie, das Symlet2, Symlet4 und Symlet8 aus der Symlet-Familie, sowie Coiflet2 und Coiflet4 gezeigt. Weitere Vertreter dieser Familien befinden sich im Anhang.



**Abb. 2.11**  $\Psi$ -Funktionen von a) Db2-Wavelet, b) Symlet2, c) Symlet4, d) Symlet8, e) Coiflet2 und f) Coiflet4

Diese Vertreter stellen allerdings auch nur jeweilige Mutterwavelets dar, die durch zwei Parameter weiter modifiziert werden können (Gl. 2.31). Über den Skalierungsparameter  $a$  erfolgt eine Dehnung oder Stauchung in  $x$ -Richtung (Dilatation), über den Translationsparameter  $b$  wird das Wavelet an verschiedene Positionen der  $x$ -Achse gesetzt.

$$\Psi_{a,b} = \frac{1}{\sqrt{a}} \Psi\left(\frac{x-b}{a}\right) \quad \text{Gl. 2.31}$$

Dabei muss man allerdings unterscheiden zwischen der kontinuierlichen und der diskreten WT. Während bei erster die beiden Parameter  $a$  und  $b$  die Werte aller reeller Zahlen annehmen können, ist die Auswahl bei der diskreten WT beschränkt (Gl. 2.32) [88]. Die Startwerte  $a_0$  und  $b_0$  können dabei frei gewählt werden, in der Regel nutzt man allerdings 2 bzw. 1 [89].

$$a = a_0^j \quad \text{und} \quad b = k \cdot b_0 \cdot a^j \quad \text{Gl. 2.32}$$

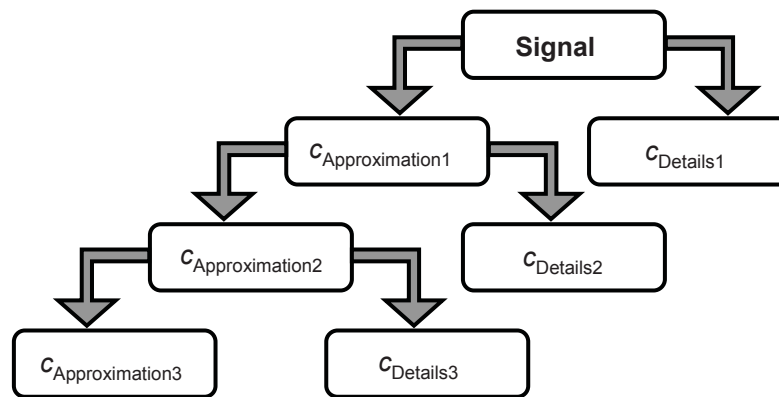
Über die unterschiedlich gestauchten und positionierten Wavelets  $\Psi_{a,b}$  kann anschließend die Signalfunktion  $f(x)$  abgebildet werden [29]. Dies kann man sich wieder, analog zur Faltung mit Gauß-Kurven, so vorstellen, dass alle gestauchten Wavelets in  $x$ -Richtung das Messsignal abrastern und an jedem Punkt entsprechende Koeffizienten berechnet werden. Tatsächlich geschieht das aber über die unterschiedlich positionierten Waveletfunktionen. Der Algorithmus dafür erinnert wiederum an die FT (Gl. 2.33).

$$c_{a,b} = \int_{-\infty}^{\infty} f(x) \Psi_{a,b}(x) dx \quad \text{Gl. 2.33}$$

Dadurch, dass an jeder Stelle  $(x - b)$  alle möglichen gedehnten und gestauchten Wavelets für die Abbildung des Messsignals zur Verfügung stehen, erfolgt dies genauer als bei der gefensterten Fourier-Transformation. Dehnung und Stauchung entsprechen einer Variation der Fensterbreite.

Für die kontinuierliche WT würden sich unendlich viele Koeffizienten  $c_{a,b}$  ergeben. Allerdings genügen in der Regel die bei der diskreten WT berechneten, um die transformierte Signalkurve wirklichkeitsgetreu wiederzugeben.

Bereits bei der Transformation werden spezielle Filter genutzt, die auf das jeweilige Wavelet genau abgestimmt sind. Diese werden als Hoch- und als Tiefpassfilter eingesetzt, wobei das Aussehen der Waveletfunktion  $\Psi$  vom Hochpassfilter bestimmt wird, die zugehörige (falls vorhandene) Skalierungsfunktion  $\Phi$  vom entsprechenden Tiefpassfilter [85]. Durch das Filtern wird die Signalkurve zunächst in zwei Anteile zerlegt: *Approximationen*, die das Signal nur ungefähr wiedergeben, und *Details*. In einem zweiten Schritt erfolgt dann eine weitere Transformation der Approximationen, wobei diese wiederum zerlegt werden. So ergibt sich eine Aufspaltung über  $k$  Ebenen, an deren Ende ein Satz Approximationskoeffizienten und  $k$  Sätze Detailkoeffizienten stehen (Abb. 2.12), aus denen sich unter Nutzung der Eigenschaften der Filter die Ursprungssignale rücktransformieren lassen.



**Abb. 2.12** Aufspaltung über drei Ebenen der Waveletkoeffizienten  $c_{a,b}$  in solche, die die Details, und solche, die die Approximationen beschreiben

Die Rücktransformation erfolgt dabei weiterhin unter Verwendung der Fourier-Transformierten und der komplex Konjugierten der Fourier-Transformierten von  $\Psi$  (Gl. 2.34).

$$f(x) = \frac{1}{C} \int_0^\infty \int_{-\infty}^\infty c(a,b) \Psi_{a,b} \frac{1}{a^2} da db \quad \text{mit} \quad C = \int_0^\infty \frac{\hat{\Psi}^*(\omega) \hat{\Psi}(\omega)}{\omega} d\omega \quad \text{Gl. 2.34}$$

Um das Signal zu entrauschen, dürfen jedoch auch in diesem Fall nicht alle Koeffizienten genutzt werden. Auf Grund der Verwendung von Hochpassfiltern bei der Berechnung der Detailkoeffizienten befindet sich in diesen besonders viel Information über das Rauschen. In den Approximationskoeffizienten hingegen findet sich die Information über das Grundsignal. Man muss also prinzipiell nur Details bei der Rücktransformation weglassen, um Rauschen zu entfernen. Dies geschieht über so genannte Schwellwerte, die harter oder weicher Natur sein können. Im ersten Fall werden Koeffizienten, die kleiner als die

Schwellwerte sind, komplett weggelassen, im zweiten Fall nur reduziert [17]. In jedem Fall erfolgt jedoch ein Entrauschen der Signalkurve.

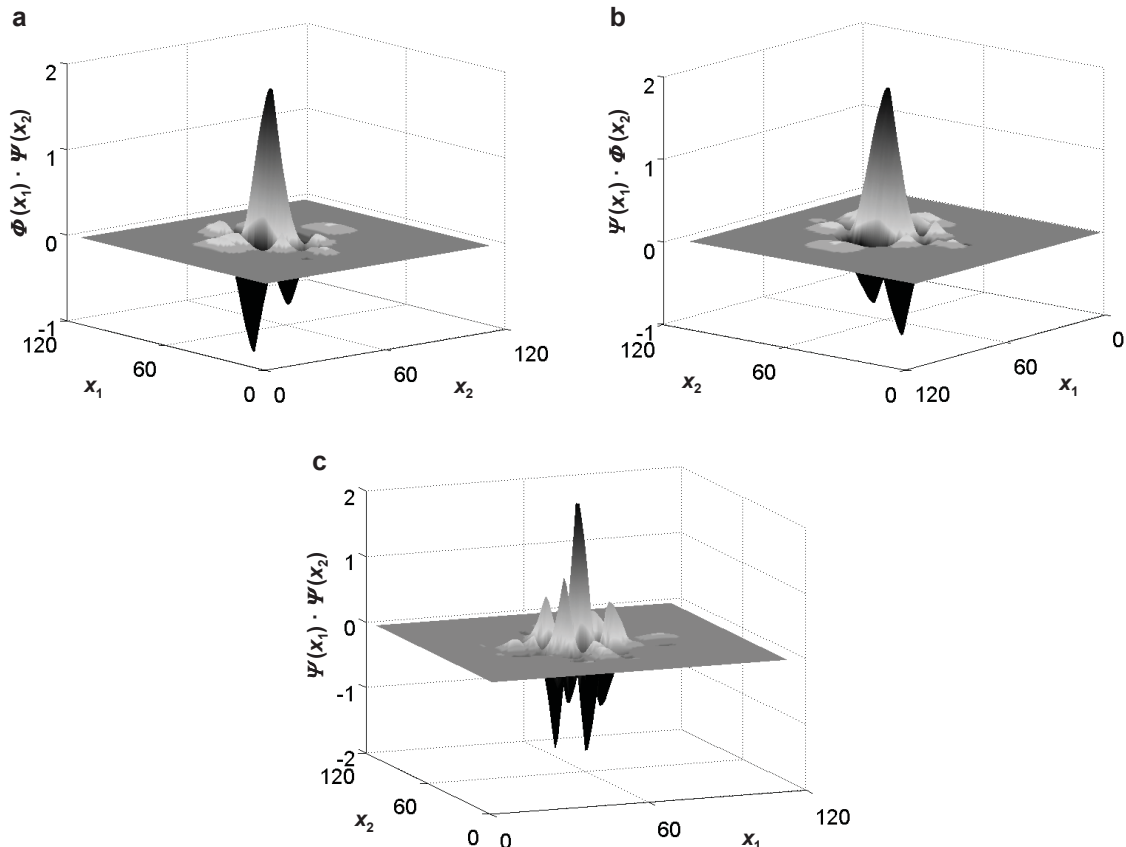
Gerade die Wavelet-Transformation wird sehr erfolgreich in der Bildverarbeitung eingesetzt [90]. Dafür werden dreidimensionale Waveletfunktionen benötigt. Diese entstehen aus den zusammengehörenden zweidimensionalen  $\Phi$ - und  $\Psi$ -Funktionen, wobei sich für die Analyse eine dreidimensionale Skalierungsfunktion  $\Phi$  und drei dreidimensionale Wavelets  $\Psi_i$  als Tensorprodukte ergeben (Gl. 2.35-2.38) [85].

$$\Phi(x_1, x_2) = \Phi(x_1) \cdot \Phi(x_2) \quad \text{Gl. 2.35}$$

$$\Psi_1(x_1, x_2) = \Phi(x_1) \cdot \Psi(x_2) \quad \text{Gl. 2.36}$$

$$\Psi_2(x_1, x_2) = \Psi(x_1) \cdot \Phi(x_2) \quad \text{Gl. 2.37}$$

$$\Psi_3(x_1, x_2) = \Psi(x_1) \cdot \Psi(x_2) \quad \text{Gl. 2.38}$$



**Abb. 2.13** Dreidimensionale  $\Psi$ -Funktionen von Symlet4

Alle diese Wavelets (Abb. 2.13, weitere im Anhang) werden wiederum über Skalierungs- und Translationsparameter modifiziert (Gl. 2.39), wobei es sich für die dreidimensionalen Wavelets bei den Parametern um Vektoren  $(a_{x1}, a_{x2})$  bzw.  $(b_{x1}, b_{x2})$  handelt. Die Einschränkungen der Werte für die diskrete WT gelten entsprechend Gl. 2.32.

$$\psi_{a_{x1}, a_{x2}, b_{x1}, b_{x2}} = \frac{1}{\sqrt{a_{x1} \cdot a_{x2}}} \psi\left(\frac{x_1 - b_{x1}}{a_{x1}}, \frac{x_2 - b_{x2}}{a_{x2}}\right) \quad \text{Gl. 2.39}$$

Mittels der unterschiedlich gestauchten und positionierten Wavelets wird dann analog zur zweidimensionalen WT das Signal  $f(x)$  abgebildet, indem Waveletkoeffizienten berechnet werden (Gl. 2.40).

$$c_{a_{x1}, a_{x2}, b_{x1}, b_{x2}} = \int_{-\infty-\infty}^{\infty} \int_{-\infty-\infty}^{\infty} f(x_1, x_2) \psi_{a_{x1}, a_{x2}, b_{x1}, b_{x2}}(x_1, x_2) dx_1 dx_2 \quad \text{Gl. 2.40}$$

Aus diesen Koeffizienten kann die ursprüngliche Signalkurve rekonstruiert werden. Werden dafür nur die Approximationskoeffizienten genutzt bzw. die Größe der Detailkoeffizienten reduziert (weiche Schwellwerte), wird dabei das Rauschen entfernt.

Der Einsatz der im Kapitel 2 genannten mathematischen Methoden der Signalbehandlung – Faltung mit Gauß-Kurven, Fourier-Transformation und Wavelet-Transformation – soll nun in den folgenden Kapiteln gezeigt werden. Dabei werden das Entrauschungsvermögen der Transformationen bei verschiedenen analytischen Messmethoden dargestellt, sowie die jeweils angewendeten Methoden untereinander verglichen.

FT und WT kommen dabei durchwegs als schnelle Fourier- bzw. diskrete Wavelet-Transformation zum Einsatz. Weiterhin ist anzumerken, dass rein durch die Transformation selbstverständlich nicht entrauscht wird, dies geschieht erst durch Einsatz von Filtern vor der Rücktransformation. Im folgenden Text ist dieser jedoch aus sprachlichen Gründen immer im Begriff „Transformation“ eingeschlossen.

### **3 Entrauschen bei konstanter Basislinie**

#### **3.1 Bestimmung von Arsenspezies mittels Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma**

Als erste analytische Methode wurde die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) gewählt, deren Einsatz in der analytischen Chemie weit verbreitet ist. Neben dem Routinebetrieb ist allerdings auch die Forschung auf dem Gebiet der HPLC-Techniken sehr aktuell. So werden von Pick [91, 92] derzeit umfangreiche Arbeiten durchgeführt, mit dem Ziel, durch die Kopplung von HPLC und Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS) Arsenspezies in Futtermitteln trennen und deren Konzentration bestimmen zu können [93]. Dies ist von Interesse, da in der Regel die in Pflanzen auftretenden organischen Arsenspezies eine geringere Toxizität aufweisen als die daneben vorkommenden anorganischen Spezies [94].

##### **3.1.1 Experimentelles**

Die praktischen Arbeiten zur Bestimmung von Arsenspezies wurden von Pick an der Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft durchgeführt [95]. Als chromatographische Einheit wurde dabei eine Series 200 HPLC (Perkin Elmer, Shelton, Connecticut, USA) genutzt, mit einer Anionenaustausch-Säule IonPac AS7 (4 mm x 250 mm, Dionex) und einer Vorsäule IonPac AG7 (4 mm x 50 mm, Dionex). Kombiniert wurde die HPLC mit einem ELAN DRCE ICP-MS (Perkin Elmer SCIEX Instruments, Concord, Ontario, Canada) als Detektor. Flussraten und weitere Messparameter sind in Tab. 3.1 aufgeführt.

Für die anorganischen Arsenstandards wurden durch Lösen von Arsen(III)oxid (99,996 %, Alfa Aesar, Karlsruhe) bzw. Arsen(V)oxid (99,9 %, Alfa Aesar, Karlsruhe) in ultrareinem Wasser jeweils Stammlösungen der Konzentration 1000 mg/L hergestellt. Ebenso wurde für Dimethylarsinsäure (DMA) (98 %, Alfa Aesar, Karlsruhe) verfahren. Die Stammlösung für Arsenobetain (AsB) ( $\geq 95,0$  %, Sigma-Aldrich, Steinheim) hingegen wurde mit einer Konzentration von 10 mg/L angesetzt. Bis zur Aufnahme der Kalibrierreihen wurden die Lösungen bei 4 °C im Dunkeln gelagert [95].



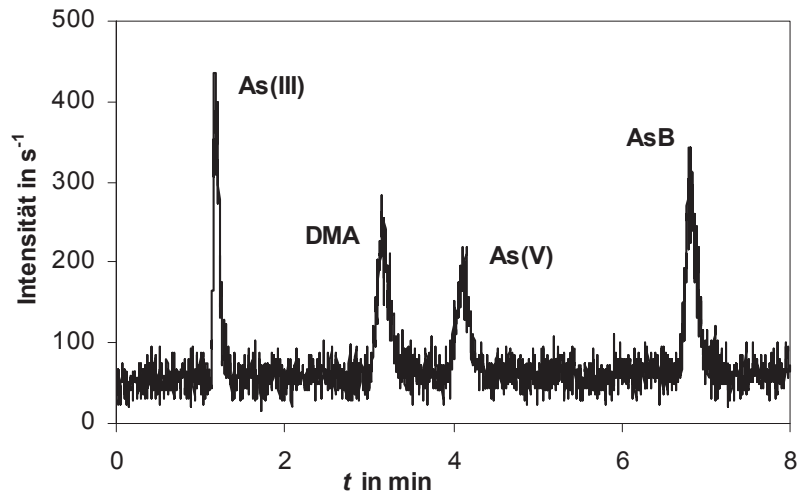
**Tab. 3.1** Messparameter für die Bestimmung von Arsenspezies mittels HPLC-ICP-MS [95]

<i>HPLC</i>	
Flussrate	1,3 mL/min
Mobile Phase A	0,5 mM Salpetersäure, 0,05 mM Benzen-1,2-Disulfonsäure (als Dikaliumsalz), 0,5 vol-% Methanol, pH 3,0
Mobile Phase B	50 mM Salpetersäure, 0,05 mM Benzen-1,2-Disulfonsäure (als Dikaliumsalz), 0,5 vol-% Methanol, pH 1,4
Gradientenprogramm	0-2 min 100 % A
	2-3 min linearer Gradient bis 50 % A und 50 % B
	3-8 min 50 % A und 50 % B
Injektionsvolumen	20 µL
<i>ICP-MS</i>	
Leistung des Plasma-Generators	1125 W
Fluss des Plasmagases	15 L/min
Fluss des Hilfsgases	1,1 L/min
Fluss des Zerstäubergases	0,9 L/min

### 3.1.2 Kalibrierkurven, Nachweisgrenzen und Signal-Rausch-Verhältnisse

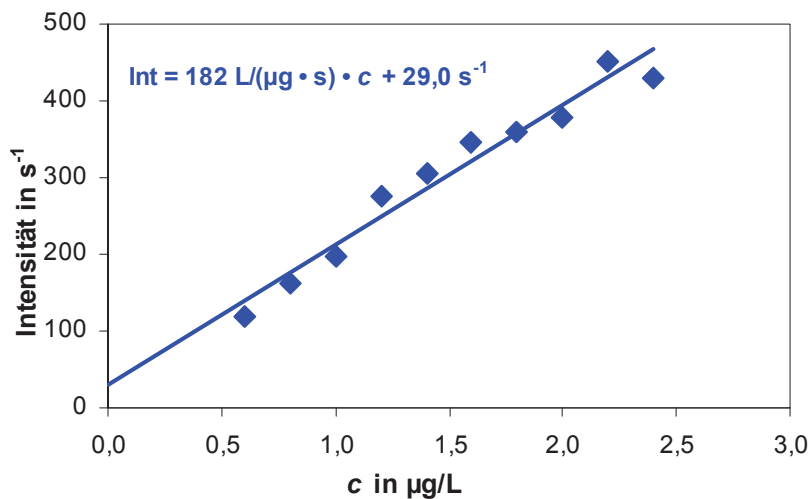
Die Kalibrierung zur Ermittlung der Nachweisgrenze (NG) erfolgte im unteren Arbeitsbereich, d.h. für Arsenkonzentrationen von 0,6 bis 2,4 µg/L in Schritten von 0,2 µg/L. Zusätzlich wurde der Blindwert gemessen.

Die vier Arsenspezies werden mittels HPLC getrennt, wobei die Peakmaxima bei Retentionszeiten von etwa 1,2 min (As (III)), 3,1 min (DMA), 4,1 min (As(V)) sowie 6,8 min (AsB) liegen (Abb. 3.1). Die gesamte Messzeit beträgt 8 min, was bei einer Auflösung von ca. 0,004 min 1889 Datenpunkte ergibt.



**Abb. 3.1** Chromatogramm der Kalibrierreihe für Arsenkonzentrationen von je 2,0 µg/L

Die Auswertung der Peaks erfolgt, wie in Kapitel 2.1.2 begründet, über deren Höhen. Die daraus resultierende Kalibrierkuve für As(III) weist eine Steigung von  $182 \text{ L}/(\mu\text{g} \cdot \text{s})$ , einen Ordinatenabschnitt von  $29,0 \text{ s}^{-1}$  (Abb. 3.2) und eine Reststandardabweichung von  $23,8 \text{ s}^{-1}$  auf. Die Daten der Kalibrierkurven für die weiteren Arsenspezies finden sich im Anhang.



**Abb. 3.2** Kalibrierkurve für As(III)

Zunächst werden aus den vorliegenden Kalibrierkurven über die in DIN 32645 [48] beschriebene indirekte Methode die Nachweisgrenzen für die vier Arsenspezies berechnet. Aus den Einzelbestimmungen ergeben sich für eine einseitige Irrtumswahrscheinlichkeit von 95 % ( $\alpha = 0,05$ ) Nachweisgrenzen zwischen 0,41 und 0,95 µg/L (Tab. 3.2). Die Unterschiede in den Nachweisgrenzen für die vier Arsenspezies spiegeln die verschieden geformten Peaks des Chromatogramms (Abb. 3.1) wider: As(III) ergibt einen schmalen,

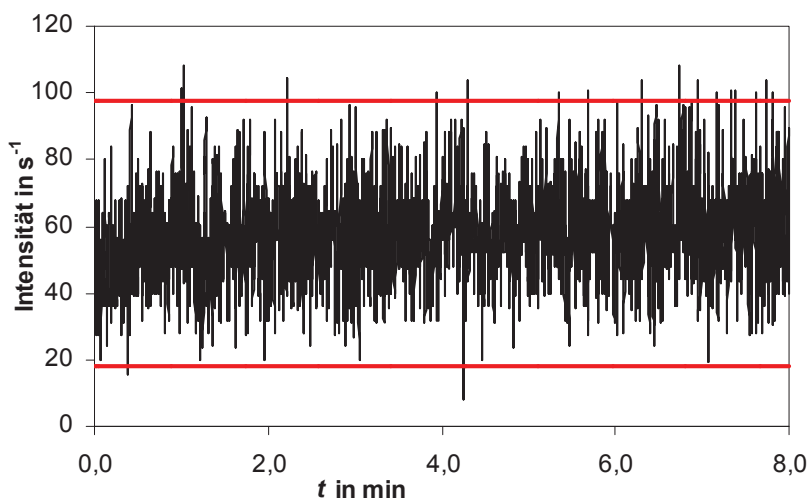
hohen Peak, wohingegen der Peak für DMA deutlich breiter und flacher ist. Je breiter ein Peak jedoch ist, desto geringer ist bei Auswertung über Peakhöhen die Nachweisgrenze für den vorliegenden Analyten.

**Tab. 3.2** Nachweisgrenzen für die vier Arsenspezies nach DIN 32645 und aus dem Peak-zu-Peak-Rauschen

<i>Analyt</i>	<i>NG in <math>\mu\text{g/L}</math></i>	<i>NG in <math>\mu\text{g/L}</math></i>
	<i>nach DIN 32645</i>	<i>über <math>R_{PP}</math></i>
As(III)	0,50	0,25
DMA	0,95	0,51
As(V)	0,44	0,72
AsB	0,41	0,35

Wie in Kapitel 2.1.2 beschrieben, gibt es neben den in DIN 32645 genannten noch weitere Methoden, Nachweisgrenzen zu berechnen. Für die Berechnung direkt aus dem Rauschen des Analysensignals muss dieses zunächst bestimmt werden:

Die mittlere Intensität der Blindwertmessung liegt bei  $57,6 \text{ s}^{-1}$ , die Streuung um den Mittelwert beträgt  $15,4 \text{ s}^{-1}$ . Somit ergeben sich für den Faktor  $k = 2,58$  die beiden Schranken  $17,8$  und  $97,4 \text{ s}^{-1}$  (Abb. 3.3).

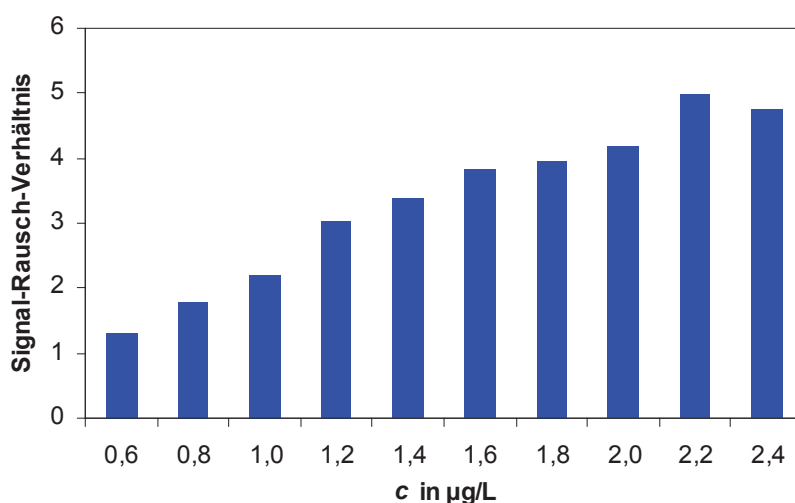


**Abb. 3.3** Chromatogramm des Blindwertes (schwarz) mit den beiden Signifikanzschranken zur Berechnung des Rauschens (rot)

Die Intensitäten von 16 Datenpunkten liegen somit über der oberen Schranke, wohingegen nur 2 Datenpunkte Intensitäten kleiner als die untere Schranke aufzeigen. Als Differenz deren Mittelwerte ergibt sich das Peak-zu-Peak-Rauschen zu  $R_{PP} = 90,3 \text{ s}^{-1}$ . Die darüber

berechneten Nachweisgrenzen für die vier Arsenspezies (Tab. 3.2) unterscheiden sich von denen über die Vorschriften der DIN 32645 berechneten. Für As(III), DMA und AsB sind die über das  $R_{pp}$  berechneten Nachweisgrenzen etwas niedriger, für As(V) etwas höher. Sie liegen allerdings alle jeweils in derselben Größenordnung.

Neben den Nachweisgrenzen sind auch Signal-Rausch-Verhältnisse ein gutes Mittel zur Beurteilung des Nachweisvermögens analytischer Messmethoden, besonders in der Chromatographie [51]. In Abb. 3.4 sind die nach Formel 2.7 berechneten SNR für As(III) dargestellt.



**Abb. 3.4** Signal-Rausch-Verhältnisse für As(III) im Kalibrierbereich von 0,6 bis 2,4 µg/L

Nach den für die Berechnung der Nachweisgrenze gewählten Parametern liegen die Konzentrationen bei einem  $SNR > 0,5$  oberhalb der NG.

Zum Vergleich der Arsenspezies untereinander und zur Beurteilung der Güte von Methoden der Signalbehandlung werden im Folgenden aus Gründen der Übersichtlichkeit nur die SNRs für Arsenkonzentrationen von 2,4 µg/L verwendet.

### 3.2 Faltung mit Gauß-Kurven

Um nun Nachweisgrenzen zu verbessern und Signal-Rausch-Verhältnisse zu erhöhen, werden mathematische Methoden der Signalbehandlung eingesetzt. Als erste, einfachste Methode steht dazu die Faltung mit Gauß-Kurven im Sinne einer Kreuzkorrelationsanalyse zur Verfügung.

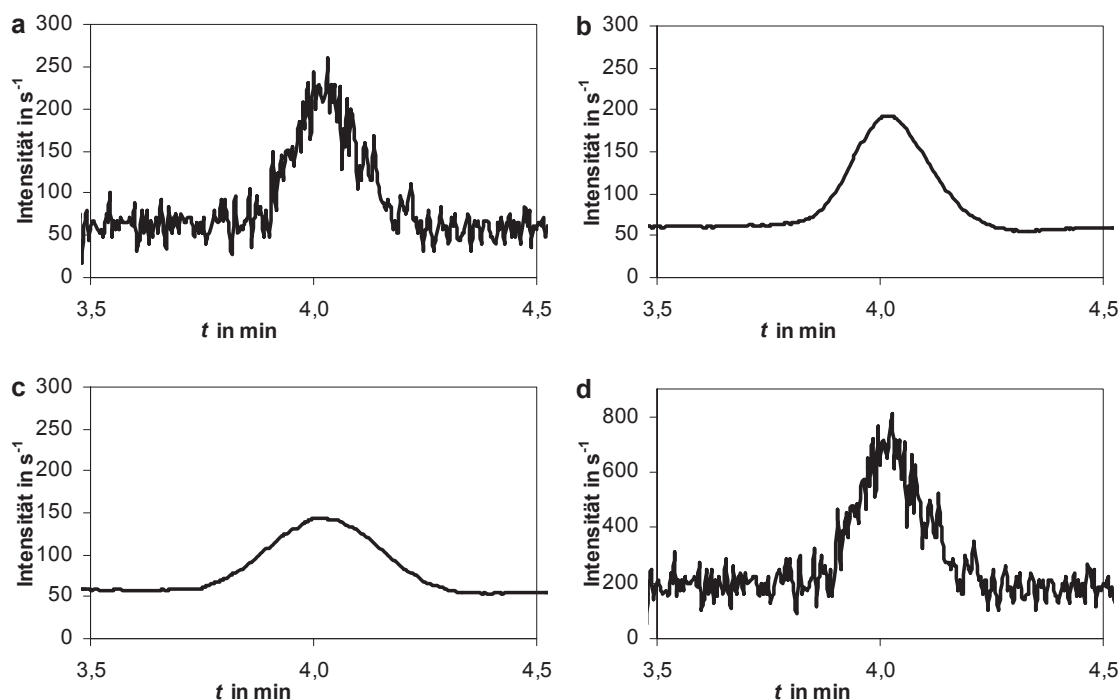
### 3.2.1 Vorüberlegungen zur Auswahl der Gauß-Kurven

Wichtigstes Auswahlkriterium für den Parameter  $\sigma$  der Gauß-Kurven ist die Halbwertsbreite der zu entrauschenden Peaks. Diese sind im Fall der chromatographischen Trennung der Arsenspezies unterschiedlich und hängen neben der Art des Analyten natürlich auch von der Konzentration ab: Je höher die Konzentration, desto größer wird in der Regel auch die Halbwertsbreite des Peaks. Aus Gründen der Einheitlichkeit wird  $w_{0,5}$  für die vier Arsenspezies jeweils bei den größten Peaks ( $c_{As} = 2,4 \mu\text{g/L}$ ) berechnet (Tab. 3.3).

**Tab. 3.3** Halbwertsbreiten der vier Arsenspezies für  $c_{As} = 2,4 \mu\text{g/L}$

<i>Analyt</i>	<i>w<sub>0,5</sub> in min</i>
As(III)	0,068
DMA	0,123
As(V)	0,161
AsB	0,140

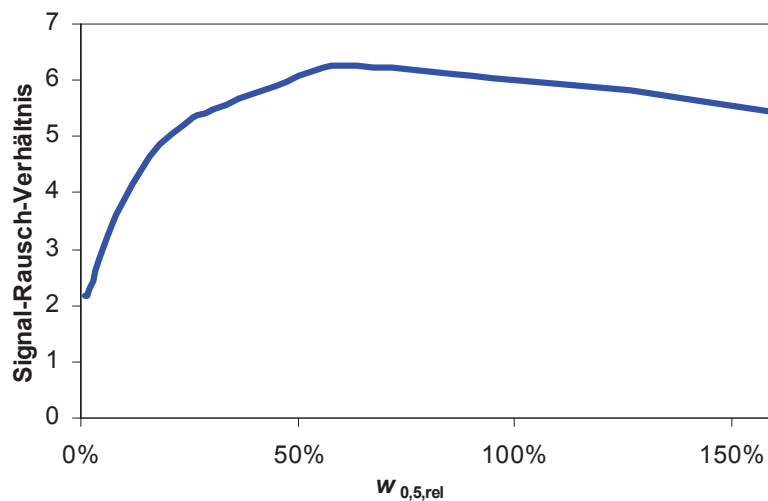
Im Idealfall sollte die Halbwertsbreite der Gauß-Kurve etwa 60 % der des Analytpeaks betragen [79]. Den Einfluss der Wahl von  $w_{0,5}$  sieht man sehr deutlich, wenn man extreme Abweichungen dieser Regel betrachtet.



**Abb. 3.5** As(V)-Peak bei einer Konzentration von  $2,4 \mu\text{g/L}$  a) vor und nach der Faltung mit Gauß-Kurven, deren Halbwertsbreite b) 60 %, c) 160 % und d) 0,8 % der Halbwertsbreite des Arsenpeaks beträgt

In Abb. 3.5a ist zunächst ein Ausschnitt aus dem Originalchromatogramm dargestellt, der den As(V)-Peak zeigt. Wird mit einer Gauß-Kurve gefaltet, deren Halbwertsbreite 60 % (d.h.  $w_{0,5} = 0,097$  min) beträgt (Abb. 3.5b), wird das Signal deutlich entrauscht, die Peakhöhe jedoch auch reduziert. Man erreicht allerdings eine gewünschte Erhöhung des Signal-Rausch-Verhältnisses.

Wählt man die Gauß-Kurve zu breit, wird das Rauschen noch stärker minimiert: Während  $R_{PP}$  für das Originalchromatogramm  $90,3 \text{ s}^{-1}$  beträgt, verringert sich dieser Wert nach dem Entrauschen auf  $22,3 \text{ s}^{-1}$  ( $w_{0,5,rel} = 60 \%$ ) bzw.  $16,6 \text{ s}^{-1}$  ( $w_{0,5,rel} = 160 \%$ ). Im letzten Fall nimmt aber auch die Peakhöhe im Verhältnis stärker ab, der Peak wird breiter (Abb. 3.5c). Wählt man andererseits zu schmale Gauß-Kurven, wird die Peakhöhe sogar deutlich erhöht (Abb. 3.5d; die veränderte Skala der Intensitätsachse ist zu beachten). Demgegenüber nimmt aber auch das Rauschen zu ( $R_{PP} = 290,9 \text{ s}^{-1}$ ). Auf eine Erhöhung des Signal-Rausch-Verhältnisses kann also nicht direkt geschlossen werden. Berechnet man das SNR nach dem Entrauschen mittels verschieden breiter Gauß-Kurven, werden die gegensätzlichen Effekte der Erhöhung und Verminderung von Rauschen und Peakhöhe sehr gut sichtbar (Abb. 3.6).



**Abb. 3.6** Signal-Rausch-Verhältnis für  $c_{As(V)} = 2,4 \mu\text{g/L}$  nach dem Entrauschen in Abhängigkeit der relativen Halbwertsbreite der Gauß-Kurven

Die Signal-Rausch-Verhältnisse, berechnet für  $c_{As} = 2,4 \mu\text{g/L}$ , liegen für sehr schmale Gauß-Kurven sogar noch knapp unter den Werten der Originalpeaks ( $\text{SNR} = 2,18$  für  $w_{0,5,rel} = 0,5 \%$ ; demgegenüber  $\text{SNR} = 2,24$  für den Originalpeak). Je breiter die Gauß-Kurven werden, desto größer wird das Signal-Rausch-Verhältnis, bis zu einem Optimum

bei etwa  $w_{0,5;rel} = 60 \%$ . Anschließend wird der Effekt stärker, dass das Rauschen zwar abnimmt, die Peakhöhen im Verhältnis dazu aber ebenfalls verringert werden, sodass die Signal-Rausch-Verhältnisse wieder kleiner werden. Dies gilt für die weiteren drei Arsenspezies analog.

Somit kann aus den vorliegenden Untersuchungen bestätigt werden, dass, wie in der Literatur beschrieben, die optimale Halbwertsbreite der Gauß-Kurve etwa 60 % der Halbwertsbreite des Analytpeaks betragen sollte. Die Toleranz dieser Forderung erstreckt sich jedoch über einen recht breiten Bereich von 40 bis 150 % (Abb. 3.6). Das Problem, zu schmale Gauß-Kurven zu wählen, ist somit als wichtiger einzustufen als die Wahl von zu breiten Gauß-Kurven, da zu größeren Verhältnissen hin das Signal-Rausch-Verhältnis weniger stark abnimmt als zu kleineren. Eine Abschätzung der Peakbreiten innerhalb einer Kalibrierreihe bei größeren Analytkonzentrationen ist somit sinnvoll.

### 3.2.2 Entrauschen der Chromatogramme

Nach den Vorüberlegungen können nun die Parameter für die Faltung mit Gauß-Kurven festgelegt werden. Da sich die Peaks der vier Arsenspezies jedoch hinsichtlich Höhe und Breite voneinander unterscheiden – der Peak von As(V) ist mehr als doppelt so breit wie der von As(III) – ist es nicht sinnvoll, das gesamte Chromatogramm mit nur einer Gauß-Kurve zu falten. Da die Halbwertsbreiten der Peaks der beiden organischen Arsenspezies im Mittel jedoch recht gut übereinstimmen, werden drei verschieden breite Gauß-Kurven als ausreichend angenommen (Tab. 3.4).

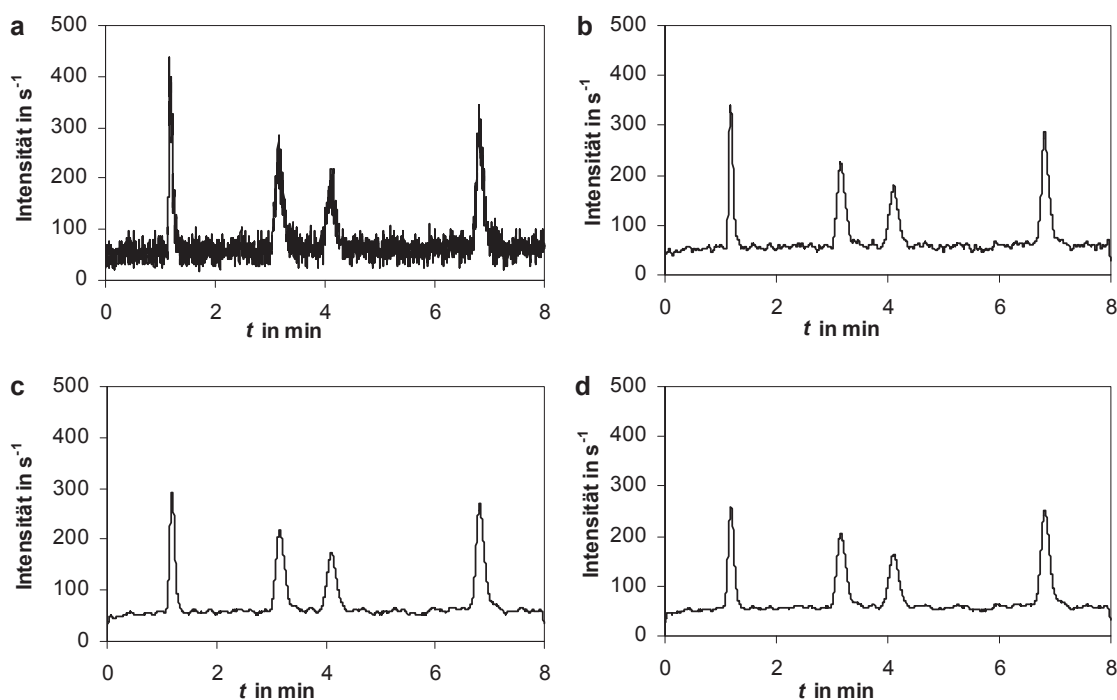
**Tab. 3.4** Halbwertsbreiten der vier Arsenspezies für  $c_{As} = 2,4 \mu\text{g/L}$ , der vorgeschlagenen Gauß-Kurven sowie das Verhältnis der beiden

<i>Analyt</i>	<i><math>w_{0,5;As}</math> in min</i>	<i><math>w_{0,5;Gau\beta}</math> in min</i>	<i><math>w_{0,5;rel}</math></i>
As(III)	0,068	0,041	60 %
DMA	0,123	0,076	62 %
As(V)	0,161	0,097	60 %
AsB	0,140	0,076	55 %

Im Ergebnis sind die Chromatogramme deutlich entrauscht (Abb. 3.7). Die Rauschamplitude  $R_{pp}$  des Blindwertes beträgt bei Anwendung der schmalsten Gauß-Kurve  $29,2 \text{ s}^{-1}$ , für

diejenige mit  $w_{0,5;\text{Gauß}} = 0,076$  min nur noch  $24,4 \text{ s}^{-1}$  und bei der breitesten  $21,8 \text{ s}^{-1}$ . Konsequenterweise verbessern sich auch die Signal-Rausch-Verhältnisse erheblich. Während das SNR für As(III) bei einer Konzentration von  $2,4 \text{ µg/L}$  und der Auswertung des Originalchromatogramms noch bei 4,77 lag, errechnet sich nun ein Wert von  $\text{SNR} = 11,4$ , was einer Verbesserung um den Faktor 2,4 entspricht. Ebenso werden die SNRs der anderen Arsenspezies erhöht, wenn die vorgeschlagene Gauß-Kurve verwendet wird: für DMA von einem SNR von 2,77 auf 8,07 (Faktor 2,9), für As(V) von einem SNR von 2,24 auf 6,25 (Faktor 2,8) sowie für AsB von einem SNR von 3,62 auf 10,4 (Faktor 2,9).

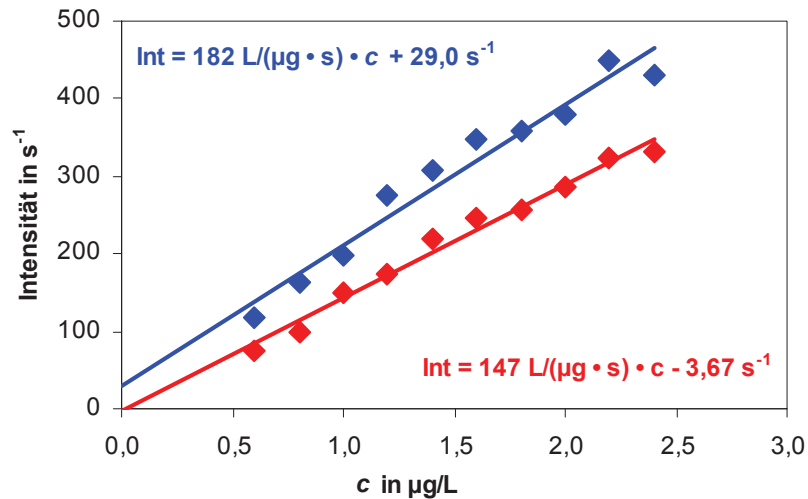
Die Verbesserungen der Signal-Rausch-Verhältnisse bei allen weiteren Konzentrationen der Kalibrierreihe liegen im selben Bereich.



**Abb. 3.7** a) Originalchromatogramm für  $c_{\text{As}} = 2,0 \text{ µg/L}$  sowie nach der Faltung mit Gauß-Kurven mit  $w_{0,5} =$  b) 0,041 min, c) 0,076 min und d) 0,097 min

Die Kalibrierkurven bei Auswertung über die Peakhöhe ändern sich hingegen nur gering (Abb. 3.8). Die Kurve wird flacher ( $a_1 = 147 \text{ L}/(\text{µg} \cdot \text{s})$ ) und ist entlang der Intensitätsachse nach unten verschoben ( $a_0 = -3,67 \text{ s}^{-1}$ ). Die Streuung der Punkte um die Kalibriergerade nimmt ab ( $s_{y,c} = 12,0 \text{ s}^{-1}$ ). Entsprechende Änderungen ergeben sich für die drei weiteren Arsenspezies.





**Abb. 3.8** Kalibrierkurve für As(III) vor (blau) und nach dem Entrauschen (rot)

Berechnet man nun über die verringerten  $R_{\text{pp}}$ -Werte und die neu erhaltenen Steigungen der Kalibriergeraden die Nachweisgrenzen der Arsenspezies (Tab. 3.5), so ist auch hier – analog zu den Signal-Rausch-Verhältnissen – eine Verbesserung festzustellen. Für As(III) erreicht man durch Faltung mit der schmalsten der verwendeten Gauß-Kurven die gewünschte Verringerung der Nachweisgrenze um den Faktor 2,5. Für DMA und AsB verbessern sich die Werte unter Nutzung der Gauß-Kurve mit  $w_{0,5} = 0,076$  min um die Faktoren 3,2 bzw. 3,1. Die Verwendung der breitesten Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,097$  min) bewirkt für As(V) sogar eine Verbesserung der Nachweisgrenze um den Faktor 3,7.

Im Vergleich der Nachweisgrenzen und Signal-Rausch-Verhältnisse als Gütemaße nach Anwendung von Methoden der Signalbehandlung fällt auf, dass die Faktoren der Verbesserung für die NGs höher sind als für die SNRs. Dies liegt nicht am Entrauschen, sondern daran, dass die Höhe großer Signale im Verhältnis stärker verringert wird als die kleiner Signale. Das bedeutet, die Intensitäten der Signale nehmen im gesamten Kalibrierbereich ab (entspricht dem verminderten Rauschen), jedoch unterschiedlich stark. Die Intensitäten im oberen Kalibrierbereich werden im Verhältnis stärker verkleinert als die Intensitäten im unteren Arbeitsbereich. Dadurch verringert sich die Steigung der Kalibriergeraden. Da exemplarisch die SNRs für die höchsten Arsenkonzentrationen herausgegriffen wurden, zeigt sich der Effekt stärker als für die Nachweisgrenze, bei deren Berechnung nur die Steigung der Kalibrierfunktion eingeht, die die Information einer mittleren Konzentration trägt.

**Tab. 3.5** Nachweisgrenzen für die vier Arsenspezies aus dem Peak-zu-Peak-Rauschen für die Originalchromatogramme sowie die mittels Gauß-Kurven entrauschen

	Original	$w_{0,5;\text{Gauß}} =$	$w_{0,5;\text{Gauß}} =$	$w_{0,5;\text{Gauß}} =$
		0,041 min	0,076 min	0,097 min
<i>Analyt</i>	<i>NG in µg/L</i>	<i>NG in µg/L</i>	<i>NG in µg/L</i>	<i>NG in µg/L</i>
As(III)	0,25	0,10	0,10	0,10
DMA	0,51	0,19	0,16	0,16
As(V)	0,72	0,24	0,21	0,20
AsB	0,35	0,13	0,11	0,11

Insgesamt fallen die Unterschiede für die Berechnung der Nachweisgrenzen bei der Verwendung der drei eingesetzten Gauß-Kurven gering aus (Tab. 3.5), das Rauschen wird aber in jedem Fall deutlich verringert. Die Abweichungen treten erst in der zweiten oder sogar dritten Nachkommastelle auf. Trotzdem sollte in Hinblick auf eine Optimierung zunächst die Halbwertsbreite eines Analysensignals bestimmt werden, um die sinnvollste Gauß-Kurve (60-%-Kriterium) auszuwählen. Sonst könnten ungünstigerweise auch deutlich zu schmale oder zu breite Gauß-Kurven eingesetzt werden, wodurch sich unter Umständen die Nachweisgrenzen sogar verschlechtern würden.

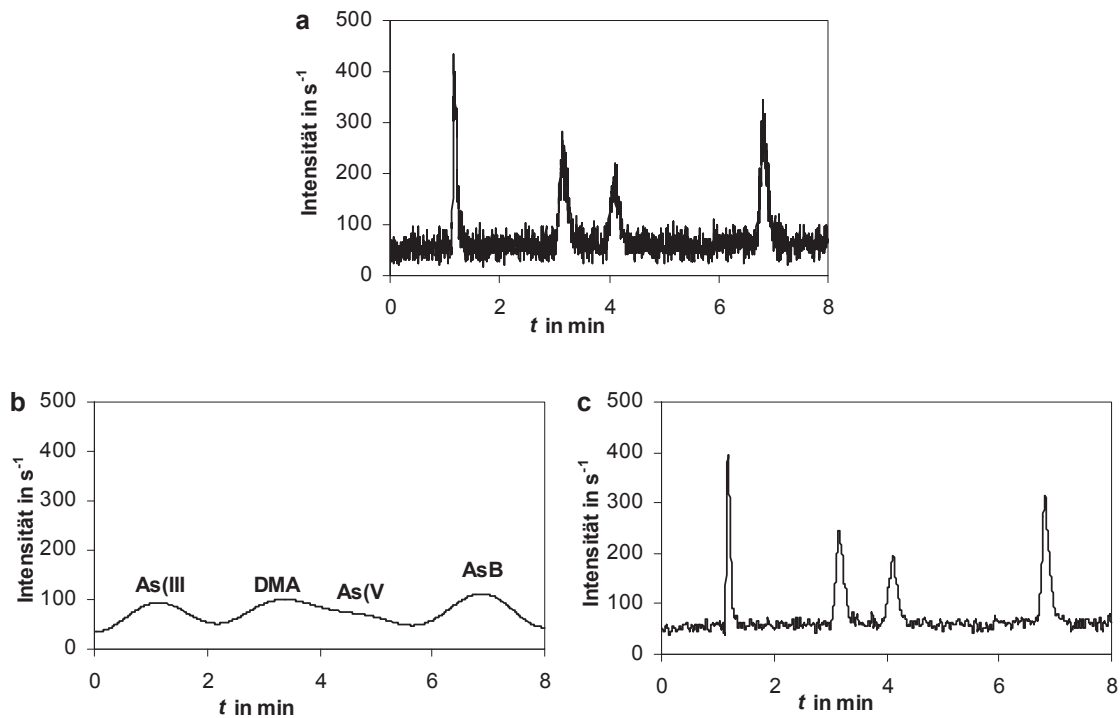
### 3.3 Fourier-Transformation

#### 3.3.1 Bestimmung der optimalen Grenzfrequenz

Neben der simpleren Faltung mit Gauß-Kurven steht weiterhin die Fourier-Transformation (FT) als klassische Methode zum Entrauschen zur Verfügung. Auch hierbei gibt es ein Kriterium zur Optimierung des Entrauschens: Die richtige Grenzfrequenz  $\nu_0$  (*cut-off frequency*) muss für die Filterfunktion gefunden werden, damit genügend viele Anteile hoher Frequenz – die das Rauschen charakterisieren – entfernt werden. Die Filterfunktion darf sich aber nicht zu sehr in den mittleren Frequenzbereich erstrecken, um schmalere Peaks nicht mit zu glätten. Auch hier ist also anzunehmen, dass der zu wählende Parameter in Zusammenhang mit der Halbwertsbreite der vorliegenden Analytpeaks steht.

Anders als bei der Faltung mit Gauß-Kurven, bei der in der Regel nur die Gefahr besteht, dass die Höhen von Analytpeaks verringert werden, ist es bei Anwendung der Fourier-Transformation auf Grund der verwendeten Sinus- und Cosinusfunktionen so, dass Peaks

stark verbreitert werden und es somit sogar zu Verringerung der Auflösung kommen kann, wenn zu viele hohe Frequenzanteile mittels Filter entfernt werden.



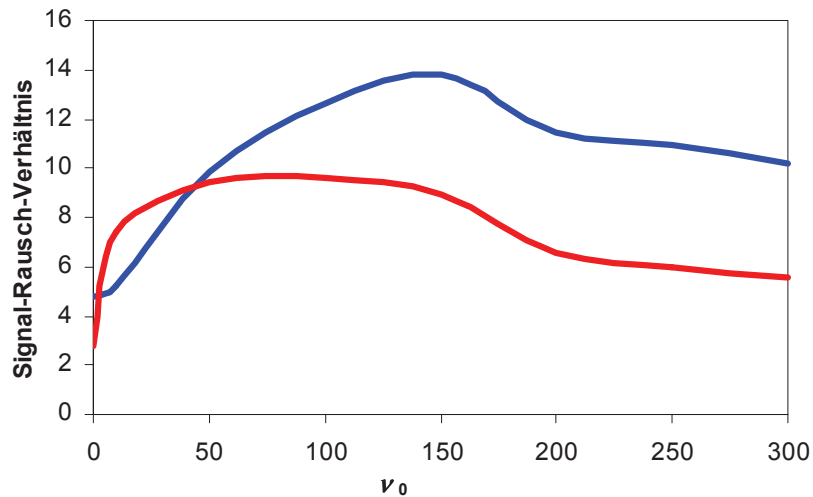
**Abb. 3.9** a) Originalchromatogramm für  $c_{\text{As}} = 2,0 \mu\text{g/L}$  sowie nach dem Entrauschen mittels Fourier-Transformation unter Verwendung von  
b)  $v_0 = 10$  und c)  $v_0 = 300$

Werden beispielsweise nur die ersten zehn Frequenzen für die Rücktransformation in die Zeitdomäne verwendet, kommt es in diesem Fall (Abb. 3.9b) zu einer Überlagerung der Peaks von DMA und As(V), deren Maxima den geringsten Abstand im Originalchromatogramm aufweisen. Die Signalkurve ist zwar deutlich entrauscht, eine Auswertung der Peaks ist aber eher erschwert, weil die Maxima weniger gut erkannt werden können, und im Fall von As(V) nur über eine Schulter ausgewertet werden müssten.

Werden hingegen Filter zu klein gewählt, das heißt, vermehrt hohe Frequenzanteile bei der Rücktransformation verwendet, bleiben Analytpeaks zwar gut erhalten, das Rauschen wird aber nicht genug vermindert (Abb. 3.9c).

Um die optimale Grenzfrequenz für die vorliegenden Daten zu ermitteln, werden, analog zum vorherigen Kapitel 3.2, die Signal-Rausch-Verhältnisse für Arsenkonzentrationen von  $2,4 \mu\text{g/L}$  berechnet. Dabei zeigt sich (Abb. 3.10), dass für As(III) eine Grenzfrequenz von

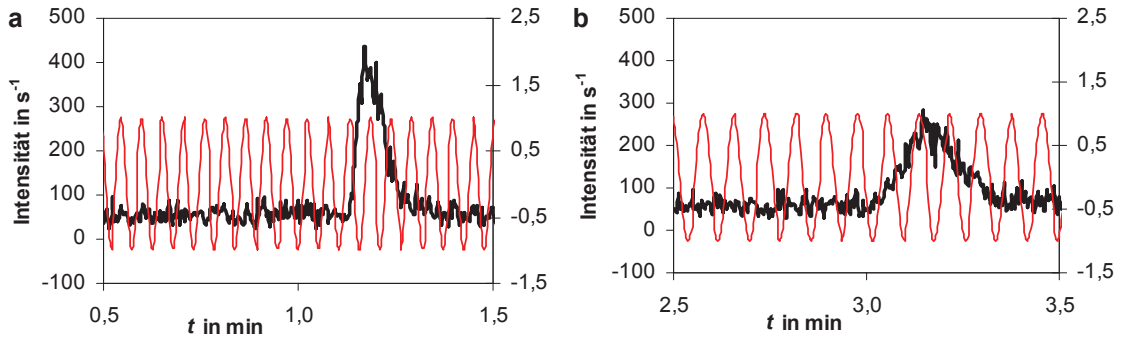
$\nu_0 = 150$  besonders geeignet ist. Bei den anderen Arsenspezies sind jedoch geringere Grenzfrequenzen zu wählen. Diese liegen etwa im Bereich von  $\nu_0 = 70$  bis  $\nu_0 = 100$ , wobei der zu verwendende Bereich recht groß ist, wie man für DMA am Plateau der roten Kurve in Abb 3.10 ablesen kann. Für As(V) und AsB ergeben sich Kurven, die analog zu der für DMA sind.



**Abb. 3.10** Signal-Rausch-Verhältnis für As(III) (blau) sowie DMA (rot) mit einer Konzentration von je  $2,4 \mu\text{g/L}$  nach dem Entrauschen in Abhängigkeit der Grenzfrequenz  $\nu_0$

Die Frequenzen  $\nu_0$  stellen bei der Berechnung in MATLAB Oberschwingungen zur ersten Grundschwingung dar. Das heißt, zunächst wird die gesamte Signalkurve mit einer Sinus- (oder Cosinus-)schwingung approximiert. Der ersten Oberschwingung entsprechen dann zwei Sinusschwingungen. Mit dieser Betrachtung lässt sich die optimale Zahl der verwendeten Frequenzen auf die Halbwertsbreite der vorliegenden Analytpeaks beziehen, was für Anwender der Chromatographie in der Regel leichter nachvollziehbar ist.

Bei Verwendung der 150. Oberschwingung einer Sinuskurve ergeben sich für den Peak von As(III) rund 1,5 komplette Sinusschwingungen pro Halbwertsbreite (Abb. 3.11a). Für die drei weiteren Arsenspezies ergeben sich bei Verwendung der 100. Oberschwingung 1,6 bis 2 komplette Schwingungen (Abb 3.11b).



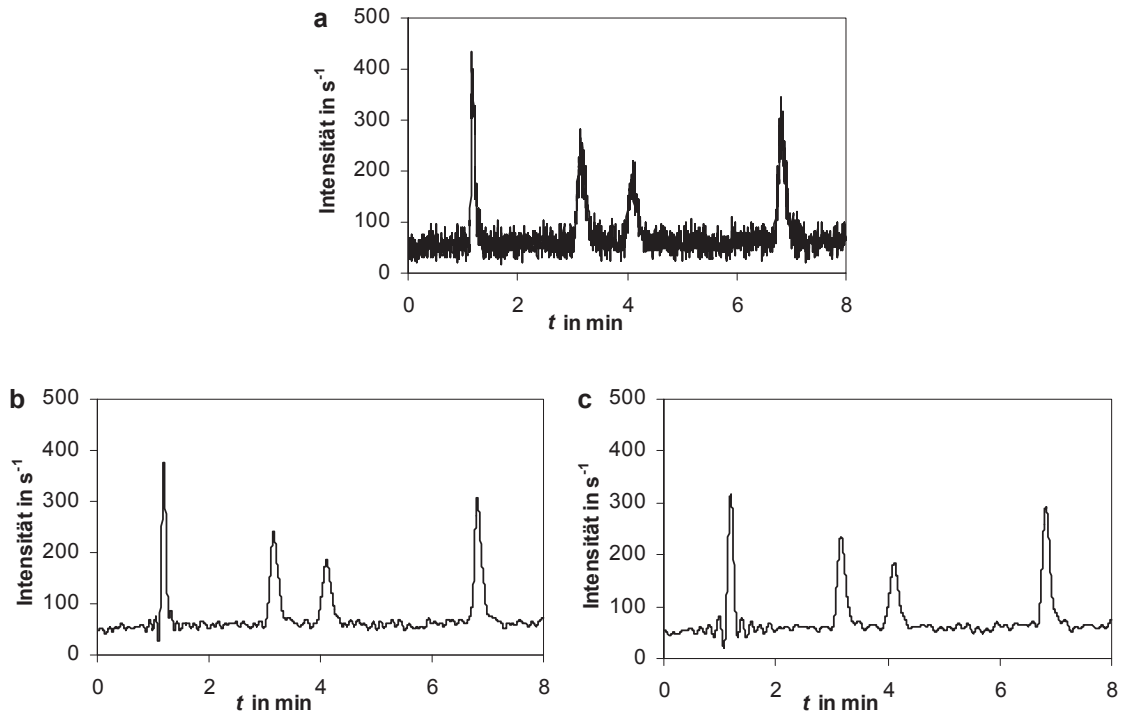
**Abb. 3.11** a) Peak von As(III) überlagert mit der 150. Oberschwingung der Grund-Sinuskurve (rot) sowie b) Peak von DMA überlagert mit der 100. Oberschwingung derselben Grund-Sinuskurve (rot)

Das heißt, Frequenzanteile bis zu diesem Bereich werden für die Nachbildung der ursprünglichen Chromatogramme aus den Fourier-Koeffizienten benötigt, wohingegen höherfrequente Anteile im Wesentlichen das Rauschen beschreiben.

### 3.3.2 Entrauschen mittels Fourier-Transformation

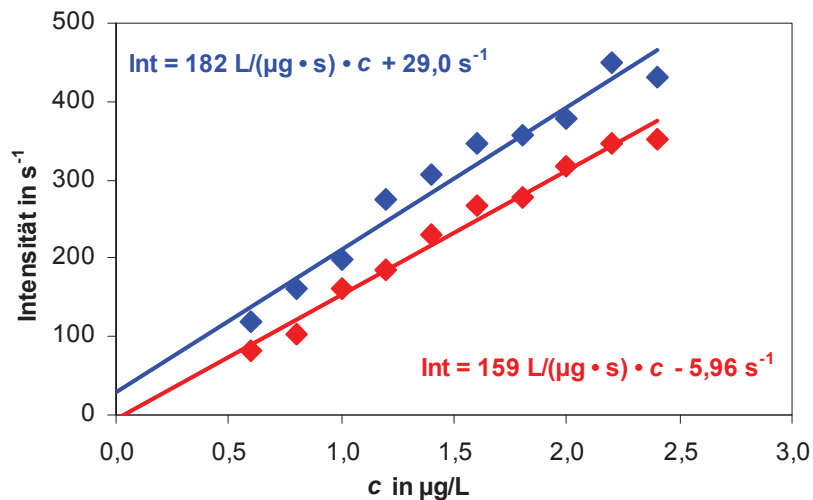
Auf Grund der durchgeführten Optimierung werden die Chromatogramme der Arsenspezies im Folgenden mittels FT entrauscht, wobei zum einen die Grenzfrequenz  $\nu_0 = 150$  (für As(III)) zum Einsatz kommt, zum anderen  $\nu_0 = 100$  (für die drei weiteren Arsenspezies).

Rein grafisch (Abb. 3.12) erkennt man zwar, dass im Vergleich zum Originalchromatogramm in beiden Fällen das Rauschen deutlich vermindert wird, die Unterschiede bei der Verwendung der beiden Grenzfrequenzen sind jedoch optisch weniger stark ausgeprägt. In Zahlen ausgedrückt verringert sich das Peak-zu-Peak-Rauschen der Blindwertchromatogramme vom Original, bei dem ein  $R_{PP}$ -Wert von  $90,3 \text{ s}^{-1}$  vorlag, zur Verwendung von  $\nu_0 = 150$  auf  $R_{PP} = 25,5 \text{ s}^{-1}$ , bei Verwendung von  $\nu_0 = 100$  sogar auf  $R_{PP} = 22,9 \text{ s}^{-1}$ , da hier noch weitere hochfrequente Anteile entfernt werden.



**Abb. 3.12** a) Originalchromatogramm für  $c_{As} = 2,0 \mu\text{g/L}$  sowie nach FT-Entrauschen mit b)  $v_0 = 150$  sowie c)  $v_0 = 100$

Die Signal-Rausch-Verhältnisse werden dementsprechend auch bei Anwendung der FT zum Entrauschen erhöht, und zwar für As(III) bei einer Konzentration von  $2,4 \mu\text{g/L}$  auf 13,8 und somit um den Faktor 2,9. Für DMA, As(V) und AsB liegen die SNRs für dieselbe Konzentration nun bei 9,68 (Faktor 3,5), 6,90 (Faktor 3,1) bzw. 12,4 (Faktor 3,4), und sind damit alle deutlich verbessert.



**Abb. 3.13** Kalibrierkurve für As(III) vor (blau) und nach (rot) dem Entrauschen mittels FT

Die Änderung in der Kalibrierkurve für As(III) (Abb. 3.13) ist analog wie beim Entrauschen mittels Gauß-Kurven: Die Kurve wird flacher und nach unten verschoben. Allerdings ist die Steigung in diesem Fall noch etwas größer ( $a_1 = 159 \text{ L}/(\mu\text{g} \cdot \text{s})$ ), der Ordinatenabschnitt hingegen noch weiter ins negative verschoben ( $a_0 = -5,96 \text{ s}^{-1}$ ). Der Wert der Reststreuung ( $s_{y,c} = 13,6 \text{ s}^{-1}$ ) liegt etwas über dem nach der Faltung mit Gauß-Kurven berechneten, ist aber trotzdem deutlich geringer als bei Auswertung der Originalchromatogramme.

Da die Steigung der Kalibriergeraden für die Arsenspezies nach dem Entrauschen nur leicht verringert ist, das Peak-zu-Peak-Rauschen jedoch merklich abgenommen hat, sind auch die darüber berechneten Nachweisgrenzen verbessert. Für As(III) liegt diese nun bei  $c_{\text{NG}} = 0,08 \mu\text{g/L}$  und ist somit um den Faktor 3,1 verringert. Die NG für den Analyten DMA verbessert sich um den Faktor 3,8 auf  $0,13 \mu\text{g/L}$ , die für As(V) berechnete sogar um den Faktor 4,1 auf  $0,18 \mu\text{g/L}$ . Die Nachweisgrenze für AsB beträgt  $0,10 \mu\text{g/L}$  (Faktor 3,7). Diese Zahlen beziehen sich darauf, dass für As(III)  $\nu_0 = 150$  gewählt wurde, für die drei weiteren Arsenspezies  $\nu_0 = 100$ . Auch bei Verwendung der Verbesserung der Nachweisgrenze als Gütemaß für das Entrauschungsvermögen der FT bestätigt sich, dass optimale Grenzfrequenzen gefunden worden sind. Der Verbesserungsfaktor für den Analyten As(III) wäre beispielsweise mit 2,8 etwas geringer, würde man hierfür  $\nu_0 = 100$  wählen. Im Vergleich zur Faltung mit Gauß-Kurven lässt sich bereits sagen, dass die Fourier-Transformation besser geeignet ist, Rauschen zu entfernen, da die Verbesserungsfaktoren etwas größer sind.

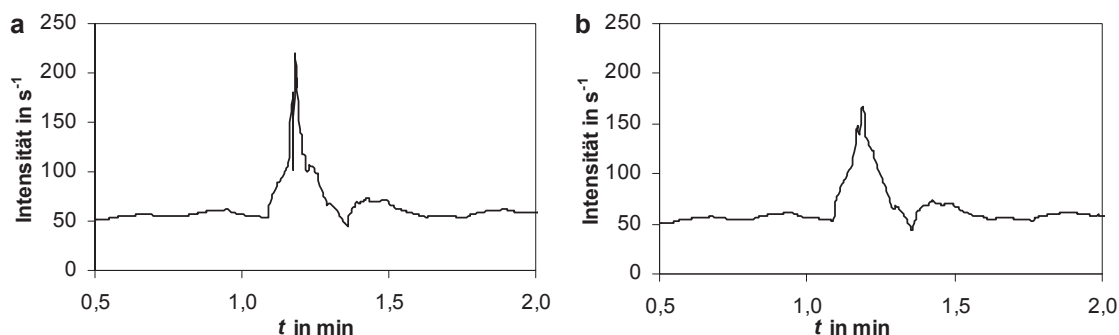
### 3.4 Wavelet-Transformation

Vor einem endgültigen Vergleich der verschiedenen Methoden der Signalbehandlung wird nun der Einsatz der Wavelet-Transformation (WT) zum Entrauschen beschrieben.

Auch hier gibt es verschiedene Auswahlparameter und Einstellungen während der Transformations- und Filtervorgänge. Die verwendete MATLAB-Toolbox bietet dabei die Möglichkeit der optischen Prüfung, ob das entrauschte Signal noch im Wesentlichen dem Original entspricht oder ob größere Abweichungen und Artefakte vorhanden sind. So ergeben sich teils große Unterschiede zwischen der Anwendung von hartem und weichem Schwellwert, sodass die Entscheidung für den einen oder anderen nicht schwer fällt. Meist resultiert die Verwendung von harten Schwellwerten, bei gleichem Entrauschungsvermö-

gen, in größeren Peakhöhen (Abb. 3.14), wohingegen nach Verwendung von weichen Schwellwerten die Peaks runder und weniger kantig erscheinen.

Die manuelle Änderung der Amplituden von Wavelet-Koeffizienten bei der Rücktransformation bringt hingegen kaum einen Vorteil, hier kann dem Algorithmus des Programms offenbar vertraut werden.



**Abb. 3.14** As(III)-Peak bei einer Konzentration von  $0,8 \mu\text{g/L}$  mittels Db2-Wavelet entrauscht, unter Verwendung von a) harten und b) weichen Schwellwerten

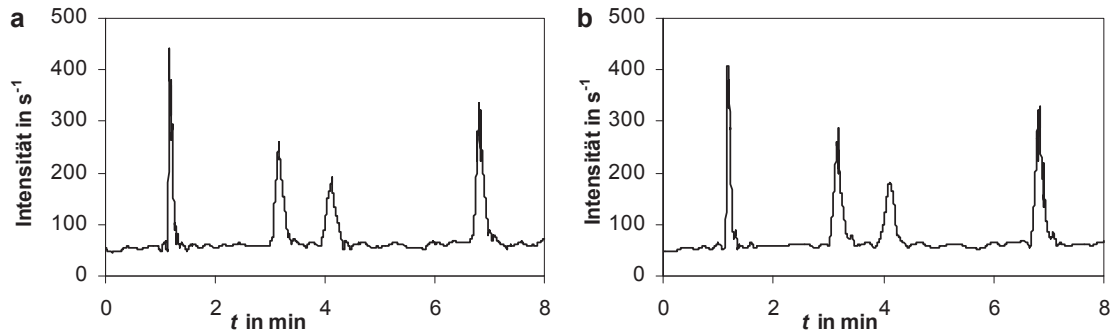
Entscheidend ist jedoch der Einfluss des gewählten Mutterwavelets, der allerdings optisch weniger gut abgelesen werden kann. Zur Verfügung stehen eine Reihe verschiedener Waveletfunktionen. Für die vorliegenden Peaks der Arsenspezies sollten eher runde, symmetrische Wavelets gewählt werden [96], doch gilt es, diese Annahme zu überprüfen.

### 3.4.1 Entrauschen der Chromatogramme mit Daubechies-Wavelets

Aus der Familie der Daubechies-Wavelets werden exemplarisch das Db2- und das Db4-Wavelet (Abb. 2.11 und Anhang) ausgewählt. Während ersteres kantig und stark asymmetrisch ist, ist das Db4-Wavelet runder, allerdings auch von Asymmetrie geprägt. Die Zerlegung der Signalkurve erfolgte für beide Funktionen auf fünf Ebenen, und ebenso wurde für beide mit hartem Schwellwert rücktransformiert (vgl. Kapitel 2.3.2).

Das hoch frequente Rauschen ist danach aus den Chromatogrammen weitestgehend verschwunden (Abb. 3.15 im Vergleich zum Original in Abb. 3.1). Im Vergleich zu den in den vorherigen Kapiteln gezeigten entrauschten Chromatogrammen fällt auf, dass die erhaltenen Peaks deutlich höher sind. Besonders bei Verwendung des Db2-Wavelets ergeben sich spitze, hohe und leicht auszuwertende Analytpeaks.





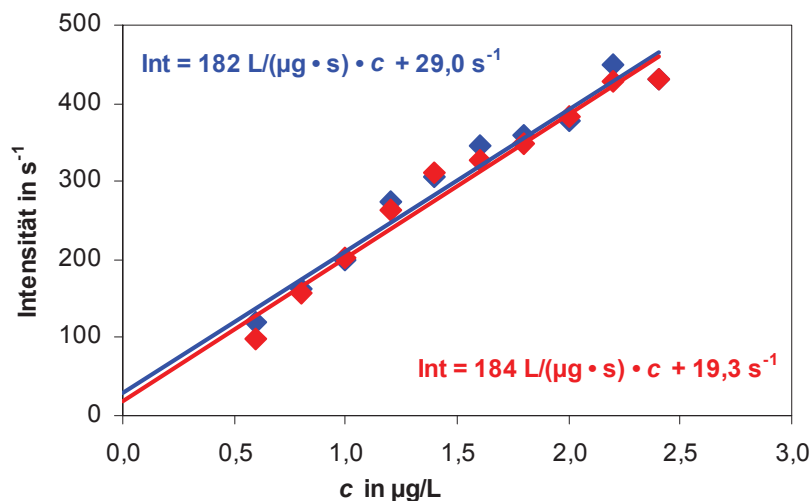
**Abb. 3.15** Chromatogramm für  $c_{As} = 2,0 \mu\text{g/L}$ , WT-entrauscht mit a) Db2-Wavelet und b) Db4-Wavelet

Bei Verringerung des Rauschens auf  $18,3 \text{ s}^{-1}$  (Db2-Wavelet) bzw.  $19,3 \text{ s}^{-1}$  (Db4-Wavelet) ergeben sich dadurch stark erhöhte Signal-Rausch-Verhältnisse um Faktoren zwischen 3,7 und 4,9 (Tab. 3.6). Dies zeigt bereits, wie gut die Wavelet-Transformation zum Entrauschen genutzt werden kann. Weiterhin lässt sich erkennen, dass das SNR für Analyten die schmale, hohe Peaks aufweisen wie As(III) durch Anwendung der WT stärker erhöht wird als das SNR für Analyten mit geringeren Peakhöhen wie As(V). Außerdem wird deutlich, dass das kantige, asymmetrische Db2-Wavelet besser geeignet ist, die vorliegenden Chromatogramme zu entrauschen, als das Db4-Wavelet.

**Tab. 3.6** Signal-Rausch-Verhältnisse und Verbesserungsfaktoren gegenüber dem Originalchromatogramm für  $c_{As} = 2,4 \mu\text{g/L}$

<i>Analyt</i>	Db2-Wavelet		Db4-Wavelet	
	<i>SNR</i>	<i>Verbesserungsfaktor</i>	<i>SNR</i>	<i>Verbesserungsfaktor</i>
As(III)	23,4	4,9	20,5	4,3
DMA	13,0	4,7	11,8	4,3
As(V)	9,61	4,3	8,28	3,7
AsB	16,2	4,5	15,1	4,2

Dass nur der Rauschanteil mittels WT entfernt wird, die Peakhöhen aber nicht wesentlich reduziert werden, zeigt auch deutlich die Kalibrierkurve für As(III) (Ab. 3.16). Im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Veränderungen nach dem Entrauschen bleiben die Kalibrierdaten hier nahezu erhalten. Der Ordinatenabschnitt ist mit  $19,3 \text{ s}^{-1}$  nur wenig geringer, die Steigung ist sogar leicht erhöht ( $a_1 = 184 \text{ L}/(\mu\text{g} \cdot \text{s})$ ), jedoch nicht signifikant. Auch die Reststandardabweichung bleibt mit  $22,2 \text{ s}^{-1}$  fast gleich.



**Abb. 3.16** Kalibrierkurve für As(III) vor (blau) und nach (rot) dem Entrauschen mittels Db2-Wavelet

Das bedeutet, dass sich bei einer Berechnung der Nachweisgrenze nach DIN 32645 aus den Kalibrierkenndaten nur eine sehr geringe Verbesserung ergibt, im Fall des Analyten As(III) um den Faktor 1,1. Dies widerspricht jedoch den deutlich erhöhten Signal-Rausch-Verhältnissen. Wird die Nachweisgrenze jedoch über das Peak-zu-Peak-Rauschen bestimmt, ergeben sich auch hier beachtliche Verbesserungen: Nach Anwendung des Db2-Wavelets zum Entrauschen liegen die Nachweisgrenzen für As(III) bei 0,05 µg/L (Faktor 5,0), für DMA bei 0,09 µg/L (Faktor 5,8), für As(V) bei 0,12 µg/L (Faktor 5,8) sowie für AsB bei 0,07 µg/L (Faktor 4,8).

Wertet man analog die entrauschten Chromatogramme nach dem Entrauschen mittels Db4-Wavelet aus, liegen die Verbesserungsfaktoren etwas niedriger, zwischen 4,6 und 5,3. Auch hierbei kristallisiert sich das Db2-Wavelet als das besser geeignete aus der Familie der Daubechies-Wavelets heraus.

### 3.4.2 Entrauschen der Chromatogramme mit Coiflets

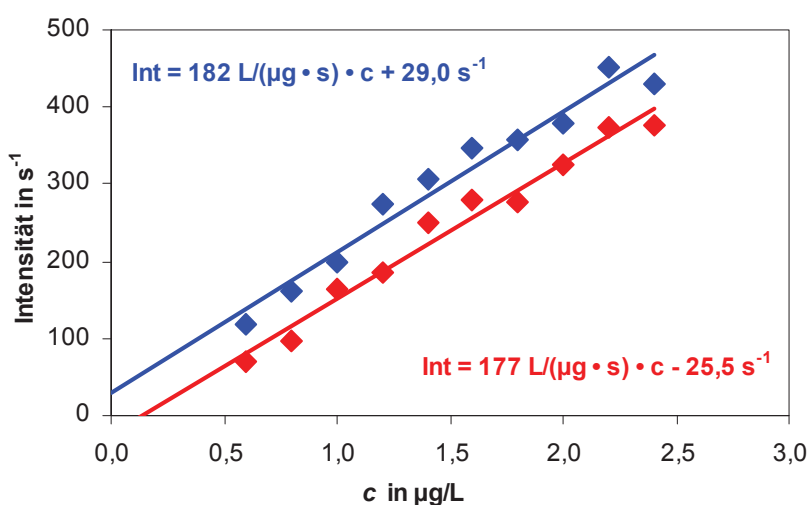
Im Gegensatz zu den Waveletfunktionen der Daubechies-Familie sind Coiflets nahezu symmetrisch und ähneln in ihrem Aussehen durchaus den Analytpeaks. Da das ein wichtiges Kriterium für die Anwendung der Faltung mit Gauß-Kurven darstellt (vgl. Kapitel 2.3.1), sollen auch zwei Vertreter der Coiflets hinsichtlich ihres Entrauschungsvermögens getestet werden.

Zum Einsatz kommen dabei Coiflet2 und Coiflet4 (Abb. 2.11). Auch für diese erfolgt die Zerlegung des Originalsignals auf fünf Ebenen. Für das Coiflet2 stellte sich bei optischer Prüfung die Verwendung weicher Schwellwerte beim Entrauschen als günstiger heraus, für das Coiflet4 hingegen die Verwendung harter Schwellwerte.

Die resultierenden Chromatogramme werden dadurch ebenfalls entrauscht. Bei Verwendung von Coiflet2 ergibt sich  $R_{PP} = 17,4 \text{ s}^{-1}$ , für Coiflet4  $R_{PP} = 19,2 \text{ s}^{-1}$ . Coiflet2 scheint somit sogar etwas besser zu Entrauschen als die im vorherigen Kapitel beschriebenen Daubechies-Wavelets. Allerdings werden die Peakhöhen mittels Coiflet2 weit weniger gut erhalten. Somit erhöhen sich zwar die Signal-Rausch-Verhältnisse (Tab. 3.7), aber nicht so stark wie bei Verwendung des Db2-Wavelets. Die Verbesserungen nach dem Entrauschen mittels Coiflet4 liegen im Bereich des Db4-Wavelets, allerdings etwas schlechter als das Db2-Wavelet. Coiflet2 und Coiflet4 scheinen gleich gut zum Entrauschen geeignet zu sein.

**Tab. 3.7** Signal-Rausch-Verhältnisse und Verbesserungsfaktoren gegenüber dem Originalchromatogramm für  $c_{As} = 2,4 \text{ µg/L}$

<i>Analyt</i>	Coiflet2		Coiflet4	
	<i>SNR</i>	<i>Verbesserungsfaktor</i>	<i>SNR</i>	<i>Verbesserungsfaktor</i>
As(III)	21,6	4,5	20,4	4,3
DMA	12,8	4,6	11,5	4,2
As(V)	8,59	3,8	8,22	3,7
AsB	15,6	4,3	14,8	4,1



**Abb. 3.17** Kalibrierkurve für As(III) vor (blau) und nach (rot) dem Entrauschen mittels Coiflet2

Die für Peak-zu-Peak-Rauschen und Signal-Rausch-Verhältnisse beschriebenen Unterschiede zwischen Coiflets und Daubechies-Wavelets schlagen sich auch bei den aus den Signalhöhen resultierenden Kalibrierkurven nieder (Abb. 3.17). Für das Entrauschungsvermögen von Coiflet2 spricht die etwas niedrigere Reststandardabweichung von  $18,8 \text{ s}^{-1}$ . Allerdings ist die Kalibrierkurve nach unten verschoben ( $a_0 = -25,5 \text{ s}^{-1}$ ), was den kleineren Analytpeaks nach dem Entrauschen entspricht. Die Steigung ist mit  $177 \text{ L}/(\mu\text{g} \cdot \text{s})$  etwas geringer, unterscheidet sich allerdings nicht signifikant von der Steigung bei Verwendung der Originaldaten, wie dies auch schon nach dem Entrauschen mittels Daubechies-Wavelets festzustellen war.

**Tab. 3.8** Nachweisgrenzen und Verbesserungsfaktoren gegenüber dem Originalchromatogramm für die vier Arsenspezies

<i>Analyt</i>	Coiflet2		Coiflet4	
	<i>NG in <math>\mu\text{g/L}</math></i>	<i>Verbesserungsfaktor</i>	<i>NG in <math>\mu\text{g/L}</math></i>	<i>Verbesserungsfaktor</i>
As(III)	0,05	5,0	0,05	4,7
DMA	0,10	4,9	0,09	5,4
As(V)	0,14	5,3	0,16	4,6
AsB	0,07	4,9	0,07	5,1

Die aus dem Peak-zu-Peak-Rauschen berechneten Nachweisgrenzen (Tab. 3.8) sind nach dem Entrauschen deutlich verbessert. Auch hier zeigt sich, dass Coiflet2 und Coiflet4 zu ähnlich guten Ergebnissen führen. Je nach betrachteter Arsenspezies sind die Verbesserungsfaktoren für das eine oder andere Coiflet größer. Insgesamt liegt die Erhöhung des Nachweisvermögens bei Faktoren 4,6-5,4. Dies entspricht auch dem Bereich, in dem die Verbesserungsfaktoren bei Verwendung des Db4-Wavelets liegen.

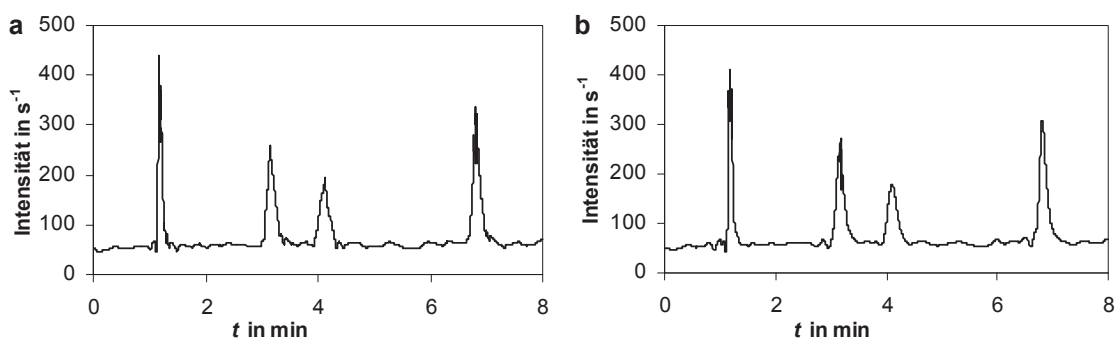
### 3.4.3 Entrauschen der Chromatogramme mit Symlets

Die Wavelets der Symlet-Familie stehen hinsichtlich ihrer Eigenschaften, besonders der Symmetrie, mit ihren  $\Psi$ -Funktionen zwischen den Daubechies-Wavelets und den Coiflets. Die Symlets kleiner Ordnungszahl sind noch stark asymmetrisch und von Kanten und Zacken geprägt. Symlet2 erinnert zum Beispiel eher an das Db2-Wavelet (vgl. Abb. 2.11). Symlets größerer Ordnungszahl hingegen weisen eine recht hohe Symmetrie auf, die Form von Symlet8 ist der des Coiflets2 sehr ähnlich. Nichtsdestotrotz gibt es Unterschiede zwi-

schen den Funktionen. Somit ist das Entrauschungsvermögen der Symlets im Gegensatz zu Daubechies-Wavelets und Coiflets ebenfalls von Interesse.

Um eine etwas größere Bandbreite zu zeigen, wurden in diesem Fall drei Wavelets aus der Familie ausgewählt: Symlet2, Symlet4 und Symlet8. Die Zerlegung der Originalsignale durch diese erfolgte wiederum auf fünf Ebenen, und es wurden jeweils harte Schwellwerte verwendet.

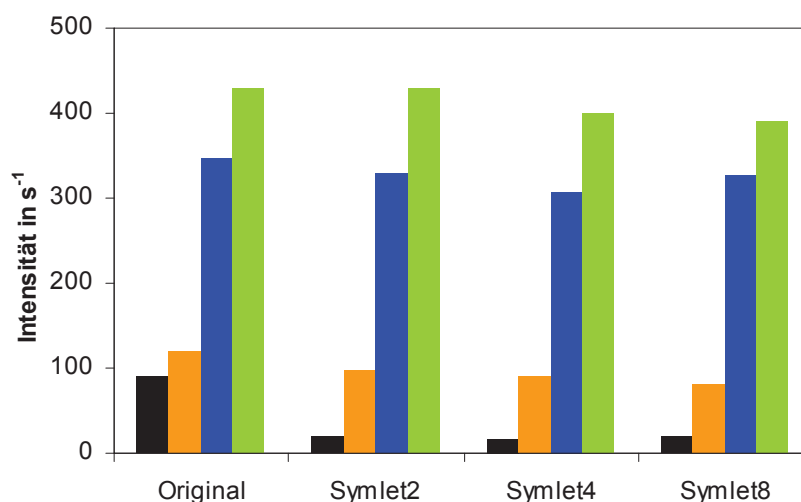
Auch durch Verwendung der Symlets kann das Rauschen entscheidend verringert werden. Für Symlet2 sinkt  $R_{PP}$  auf  $18,3 \text{ s}^{-1}$ , für Symlet4 sogar auf  $16,9 \text{ s}^{-1}$  und für Symlet8 auf  $19,0 \text{ s}^{-1}$ . Dabei bleiben die Peakhöhen für die Analyten gut erhalten (Abb. 3.18), wobei ein absteigender Trend von Symlet2 über Symlet4 zu Symlet8 zu beobachten ist. Dies entspricht der Ähnlichkeit der  $\Psi$ -Funktionen von Symlet8 und Coiflet2, bei dessen Verwendung ein ähnlicher Effekt festzustellen war.



**Abb. 3.18** Chromatogramm für  $c_{As} = 2,0 \text{ } \mu\text{g/L}$ , WT-entrauscht mit a) Symlet2 und b) Symlet8

Um zu verdeutlichen, was das Entrauschen bei gleichzeitigem Erhalt der Peakhöhen bedeutet, werden diese für As(III) bei drei ausgewählten Konzentrationen des Kalibrierbereichs neben dem Peak-zu-Peak-Rauschen dargestellt (Abb. 3.19).

Ohne den Einsatz von Methoden der Signalbehandlung zum Entrauschen ist das Nettosignal im unteren Kalibrierbereich nur unwesentlich größer als das Rauschen selbst. Da das  $R_{PP}$  durch die Symlets jedoch verringert wird, treten die größtenteils in ihrer Höhe erhaltenen Analytsignale daneben deutlicher hervor. Diese werden zwar abgeschwächt, wobei dies in der Regel von Symlet2 in Richtung Symlet8 verstärkt festzustellen ist, jedoch ist der Effekt des Entrauschens im Verhältnis größer.



**Abb. 3.19** Intensitäten des Peak-zu-Peak-Rauschens (schwarz) und der Nettosignale für As(III) bei einer Konzentration von 0,6 µg/L (orange), 1,6 µg/L (blau) bzw. 2,4 µg/L (grün) vor und nach dem Entrauschen mit Symlets

Das drückt sich dann natürlich in den Zahlen des erhöhten Signal-Rausch-Verhältnisses aus (Tab. 3.9). Diese liegen im Bereich der durch Verwendung der anderen Wavelets erhaltenen Werte. Der Vergleich der Symlets untereinander bestätigt die bisher getroffenen Interpretationen: Von Symlet2 über Symlet4 zu Symlet8 sinkt das Vermögen, Peakhöhen zu erhalten. Kombiniert mit dem kleinsten Peak-zu-Peak-Rauschen nach Anwendung von Symlet4 resultieren diese beiden Eigenschaften darin, dass die Signal-Rausch-Verhältnisse durch Symlet4 am stärksten erhöht werden.

**Tab. 3.9** Signal-Rausch-Verhältnisse nach Verwendung von Symlets zum Entrauschen und Verbesserungsfaktoren gegenüber dem Originalchromatogramm für  $c_{As} = 2,4 \mu\text{g/L}$

<i>Analyt</i>	Symlet2		Symlet4		Symlet8	
	<i>SNR</i>	<i>Verbesserungs-faktor</i>	<i>SNR</i>	<i>Verbesserungs-faktor</i>	<i>SNR</i>	<i>Verbesserungs-faktor</i>
As(III)	23,4	4,9	23,6	5,0	20,5	4,3
DMA	13,0	4,7	5,07	5,1	11,8	4,2
As(V)	9,60	4,3	9,82	4,4	8,50	3,8
AsB	16,2	4,5	16,3	4,5	14,8	4,1

Die Kalibrierkurven für As(III) ändern sich nach dem Entrauschen analog zu denen nach Verwendung von Daubechies-Wavelets und Coiflets. Die Steigungen bleiben prinzipiell erhalten ( $a_1 = 183 \text{ L}/(\mu\text{g} \cdot \text{s})$  für Symlet2,  $a_1 = 190 \text{ L}/(\mu\text{g} \cdot \text{s})$  für Symlet4 sowie

$a_1 = 181 \text{ L}/(\mu\text{g} \cdot \text{s})$  für Symlet8), die Ordinatenabschnitte sinken ( $a_0 = 19,2 \text{ s}^{-1}$  für Symlet2,  $a_0 = -8,26 \text{ s}^{-1}$  für Symlet4 und  $a_0 = 3,34 \text{ s}^{-1}$  für Symlet8), wobei sich beim Entrauschen mit Symlet2 der größte Wert ergibt. Dies entspricht der Ähnlichkeit mit dem Db2-Wavelet. Die Reststandardabweichungen liegen etwas höher im Vergleich zu denen nach Einsatz von Vertretern der anderen Wavelet-Familien.

Aufgrund der ähnlichen Steigungen der Kalibrierkurven, zeichnet sich bei Vergleich der Nachweisgrenzen (Tab. 3.10) ein analoges Bild zu den Signal-Rausch-Verhältnissen ab. Die Werte sind in derselben Größenordnung wie die durch Daubechies-Wavelets und Coiflets erreichten. Die Verbesserungsfaktoren liegen im Bereich 4,7-5,9 je nach Analyt und verwendetem Symlet, wobei Symlet4 besser zum Entrauschen der Chromatogramme geeignet zu sein scheint als die anderen Vertreter der Familie.

**Tab. 3.10** Nachweisgrenzen nach dem Entrauschen mit Symlets und Verbesserungsfaktoren gegenüber dem Originalchromatogramm für die vier Arsenspezies

<i>Analyt</i>	Symlet2			Symlet4			Symlet8		
	<i>NG in <math>\mu\text{g/L}</math></i>	<i>Faktor</i>		<i>NG in <math>\mu\text{g/L}</math></i>	<i>Faktor</i>		<i>NG in <math>\mu\text{g/L}</math></i>	<i>Faktor</i>	
As(III)	0,05	5,0		0,04	5,6		0,05	4,7	
DMA	0,09	5,8		0,09	5,9		0,10	5,2	
As(V)	0,12	5,8		0,12	5,9		0,15	5,0	
AsB	0,07	4,8		0,06	5,8		0,07	5,1	

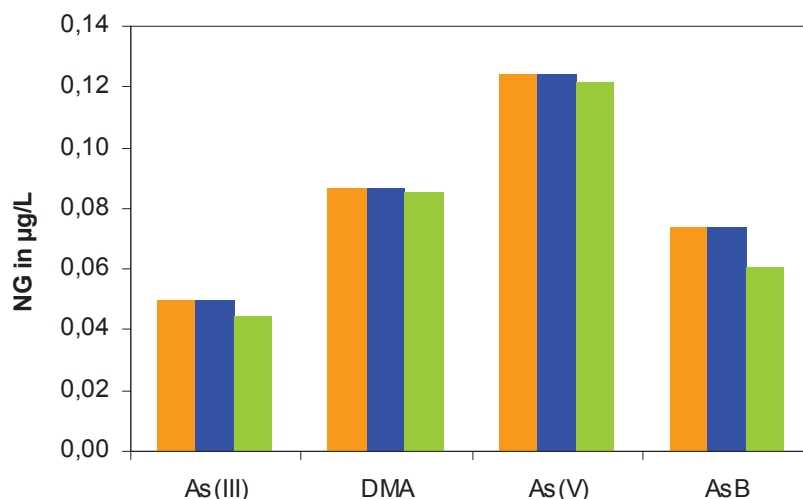
#### 3.4.4 Auswahl des geeignetsten Wavelets

Nach den vorliegenden Untersuchungen kann die generelle Annahme, möglichst symmetrische und runde Wavelets seien besser geeignet [96] zum Entrauschen von Analytpeaks in Chromatogrammen, so nicht bestätigt werden. Signal-Rausch-Verhältnisse sind gerade nach dem Einsatz des stark asymmetrischen Db2-Wavelets stärker erhöht als bei Verwendung der recht symmetrischen Vertreter der Coiflet-Familie. Dasselbe gilt für die Verbesserung der berechneten Nachweisgrenzen.

Generell ist zu sagen, dass die Unterschiede in den Auswirkungen der gewählten Wavelets gering und in der Regel erst in den Nachkommastellen festzustellen sind. Dennoch sollte man sich wohl nicht für Wavelets höherer Ordnungszahl entscheiden. So sind Coiflets und Symlet8 vermutlich bereits zu symmetrisch, um das hoch frequente Rauschen zu entfernen und die Peakhöhen gleichzeitig optimal zu erhalten. Auch das Db4-Wavelet, das auf Grund

des Aussehens seiner  $\Psi$ -Funktion ohnehin nur eine geringe Ähnlichkeit mit den Arsenpeaks aufweist, ist nicht das Wavelet erster Wahl.

Vergleicht man die mit Db2-Wavelet, Symlet2 und Symlet4 erreichten Nachweisgrenzen für die vier Arsenspezies (Abb. 3.20), so erkennt man keinen Unterschied zwischen den ersten beiden Wavelets. Die Werte für Symlet4 liegen jedoch für alle vier Arsenspezies noch etwas unterhalb der anderen, die erreichten Nachweisgrenzen sind somit besser. Weiterhin fällt auf, dass die bei Nutzung von Symlet4 relative Verbesserung im Vergleich zu den anderen beiden Wavelets für Spezies mit größeren Peakhöhen (und damit geringeren Nachweisgrenzen) wie As(III) oder AsB stärker ausgeprägt ist als bei Vertretern mit kleineren Peakhöhen.



**Abb. 3.20** Nachweisgrenzen für die vier Arsenspezies nach dem Entrauschen mit Db2-Wavelets (orange), Symlets2 (blau) sowie Symlets4 (grün)

Als geeignetes Wavelet zum Entrauschen der vorliegenden Chromatogramme ist somit eher ein stark asymmetrisches wie das Db2-Wavelet oder Symlet2 zu wählen. Optimal jedoch ist Symlet4, dessen Eigenschaften zwischen den stark asymmetrischen Wavelets und den nahezu symmetrischen Wavelets hoher Ordnungszahl (Coiflets, Symlet 8) liegen. Mittels Symlet4 ergeben sich mittlere Verbesserungen der Signal-Rausch-Verhältnisse von Faktor 4,7 bzw. der Nachweisgrenzen von Faktor 5,8.



### 3.5 Vergleich der gewählten Methoden der Signalbehandlung

In Kapitel 3 ist die Anwendung dreier mathematischer Methoden der Signalbehandlung zum Entrauschen von Flüssigkeitschromatogrammen dargestellt: die Faltung mit Gauß-Kurven, die Fourier-Transformation und die Wavelet-Transformation. Für jede dieser Methoden gibt es entscheidende Parameter, die beim Vorgang des Entrauschens vorgegeben werden müssen.

Im Fall der Faltung mit Gauß-Kurven ist dies der Streuparameter  $\sigma$  der Verteilung. Dieser hat Einfluss auf die Breite der Gauß-Kurve. Diese – gemessen als Halbwertsbreite – sollte etwa 60 % der Halbwertsbreite des zu entrauschenden Analytpeaks betragen. Anders als in der Literatur angegeben [79], ist der Wert von 60 % allerdings nicht unbedingt maximal einzuhalten. Im Gegensatz dazu kann ein relativ breiter Bereich von ca. 40 bis 150 % für die Halbwertsbreite angewendet werden. Große Abweichungen vom Idealwert nach oben sind weniger kritisch als solche nach unten. Im vorliegenden Fall wurden die Streuparameter so gewählt, dass die Halbwertsbreiten der Gauß-Kurven für die sich stärker unterscheidenden Analyten As(III) und As(V) 60 % deren Peak-Halbwertsbreite betrugen. Für die recht ähnlichen Peaks von DMA und AsB wurde aus Gründen der Vereinfachung nur eine Gauß-Kurve gewählt, mit  $w_{0,5;rel} = 62\%$  bzw. 55 %.

Beim Entrauschen mittels Fourier-Transformation kommt es auf die gewählte Grenzfrequenz an. Optimal sind gemäß den Voruntersuchungen Werte um  $\nu_0 = 150$  für As(III) und  $\nu_0 = 100$  für die drei weiteren Arsenspezies. Diese Oberschwingungen entsprechen etwa 1,5 bis 2 Sinus- oder Cosinusschwingungen pro Halbwertsbreite eines Peaks und werden für eine gute Approximation der ursprünglichen Chromatogramme noch benötigt.

Im Fall der Wavelet-Transformation ist bis auf die Art des Schwellwertes, dessen Auswahl durch optische Prüfung erfolgen kann – bis auf die Auswertung mit Coiflet2 wurde immer der Parameter „harter Schwellwert“ gewählt – vor allem die Wahl des richtigen Mutterwavelets entscheidend. Zum Vergleich wurden die  $\Psi$ -Funktionen des Db2- und Db4-Wavelets, von Coiflet2 und Coiflet4 sowie Symlet2, Symlet4 und Symlet8 gewählt. Somit stehen für eine Gegenüberstellung Funktionen verschiedener Asymmetrie zur Verfügung.

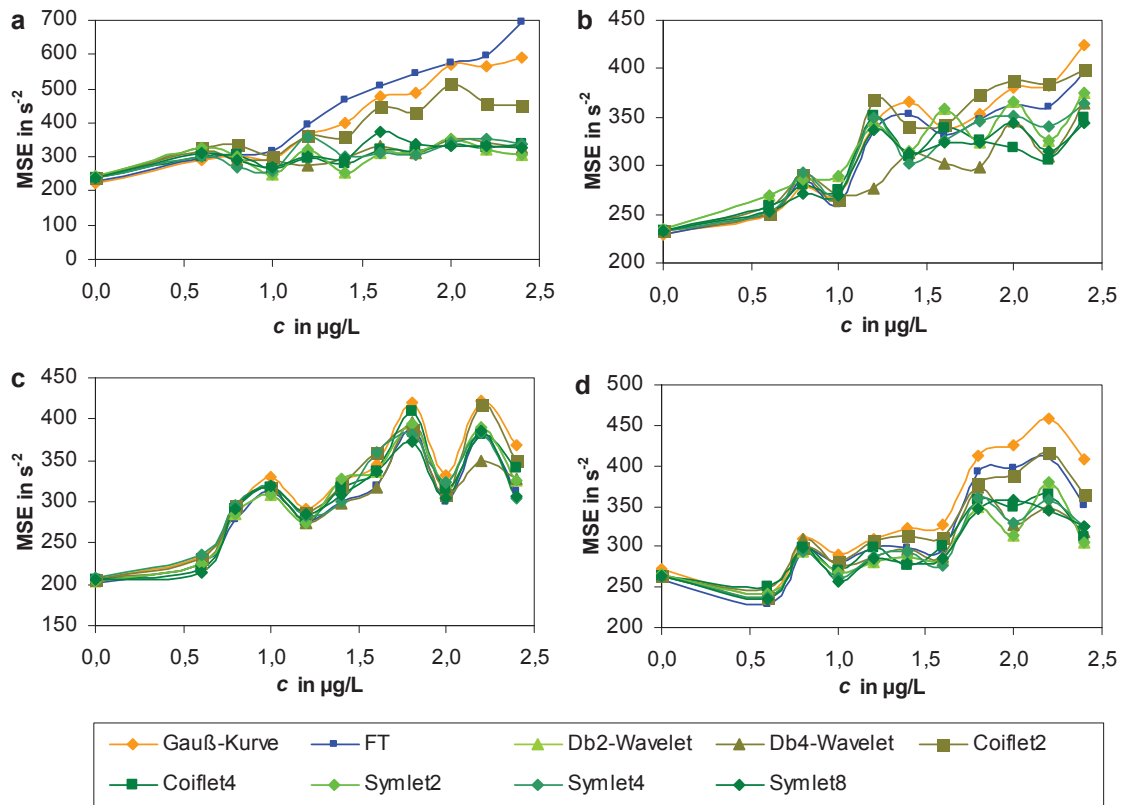
Eine Möglichkeit, verschiedene Methoden der Signalbehandlung hinsichtlich ihres Entrauschungsvermögens zu vergleichen, stellt laut Literatur [96] der *mean squared error* (MSE) dar, also die mittlere Fehlerquadratsumme. Er wird berechnet (Gl. 3.1), indem von jedem Wert  $y$  der Originalkurve der korrespondierende Wert  $\hat{y}$  der entrauschten Kurve abgezogen wird. Die Quadrate der Differenzen werden aufsummiert und durch die Zahl  $n$  der vorliegenden Datenpunkte geteilt. Er entspricht damit dem unter anderem zur Beurteilung von multivariaten Regressionsmethoden eingesetzten PRESS-Wert und ist das Quadrat des RMSEP-Wertes [97].

$$\text{MSE} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2 \quad \text{Gl. 3.1}$$

Der MSE-Wert sollte möglichst gering sein, denn dann bestehen wenige Abweichungen zwischen Original und entrauschter Kurve, das heißt der prinzipielle Verlauf bleibt beim Entrauschen erhalten. Der rechnerische Idealfall eines MSE-Wertes von null tritt jedoch nur dann auf, wenn die beiden Signalkurven identisch sind. Allerdings wurde dann auch nicht entrauscht, weshalb von null unterschiedliche Werte für die Beurteilung des Entrauschungsvermögens durchaus positiv sind.

Da beim Falten mit Gauß-Kurven und der Fourier-Transformation unterschiedliche Parameter für die vier Arsenspezies beim Entrauschen der Chromatogramme genutzt werden, ist es auch sinnvoll, den MSE-Wert für jeden Analyten einzeln im Bereich des jeweiligen Peaks zu berechnen. Da die Zahl der in die Formel eingehenden Datenpunkte dabei unterschiedlich ist, kann man die MSE-Werte der vier Arsenspezies quantitativ nicht vergleichen, es können also von vornherein keine Aussagen getroffen werden, für welchen der Analyten das Entrauschen am erfolgreichsten durchgeführt worden ist.

Betrachtet man zunächst die für As(III) berechneten MSE-Werte (Abb. 3.21), so wird deutlich, dass vor allem bei ansteigender Arsenkonzentration (ab ca. 1,0 µg/L) die Werte für die mit Gauß-Kurven gefalteten und Fourier-transformierten Daten höher sind als die übrigen. Das ist ein Hinweis darauf, dass diese beiden Methoden wohl weniger gut zum Entrauschen geeignet sind als die Wavelet-Transformation. Gleiches gilt für die Verwendung des Coiflets2. Zwischen den übrigen Waveletfunktionen ist kaum ein Unterschied festzustellen.



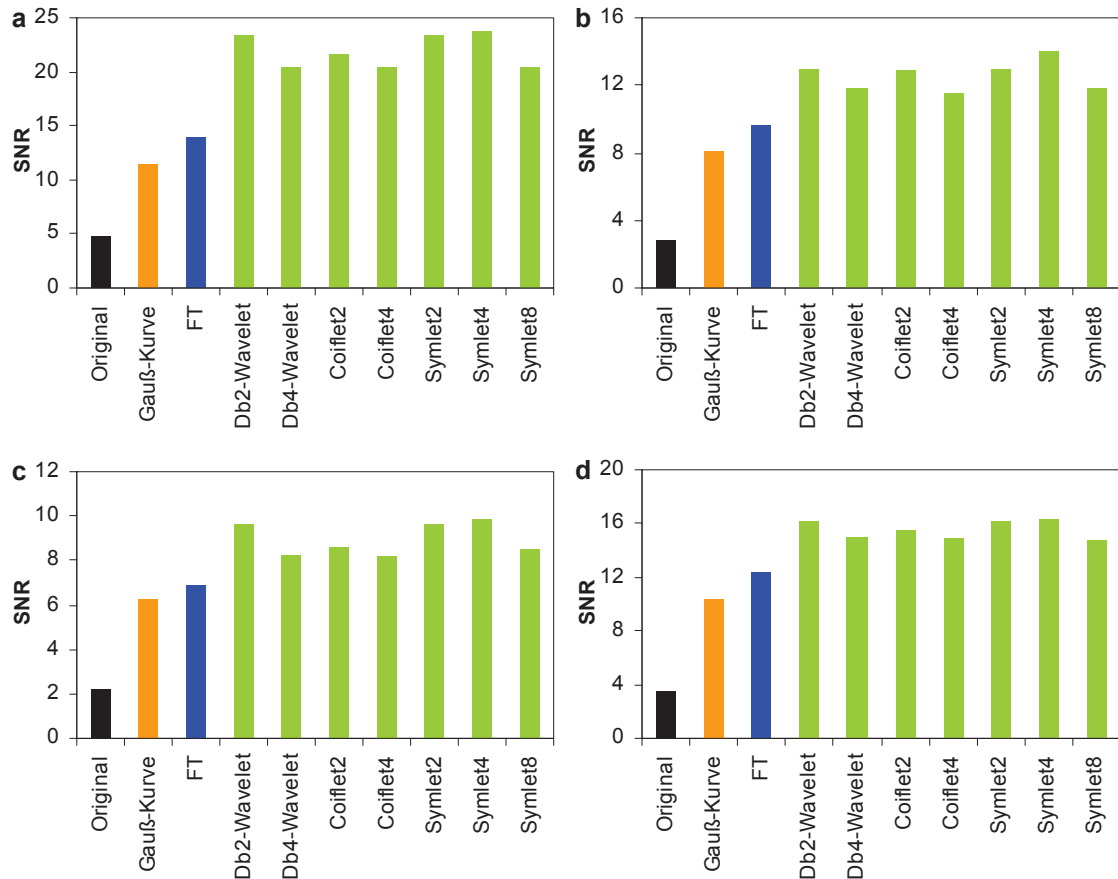
**Abb. 3.21** MSE-Werte als Funktion der Arsenkonzentration für a) As(III), b) DMA, c) As(V) und d) AsB

Wenn man sich den anderen drei Arsenspezies zuwendet, werden die Unterschiede zwischen den Signalbehandlungsmethoden noch geringer, bzw. es lassen sich keine klaren Aussagen treffen, ob eine davon besser oder schlechter geeignet ist als die andere. Für DMA streuen die MSE-Werte ab einer Konzentration von ca.  $1,4 \mu g/L$  sehr stark, die Werte für Coiflet2 und Faltung mit Gauß-Kurven liegen aber tendenziell über den anderen. Für AsB ist dieser Effekt sogar erst ab Konzentrationen von  $1,8 \mu g/L$  festzustellen, wobei hier die Faltung mit Gauß-Kurven am schlechtesten einzuschätzen ist. Betrachtet man die MSE-Werte für As(V), so ist tatsächlich kein Unterschied zwischen den Methoden der Signalbehandlung festzustellen.

Insgesamt ist der MSE-Wert, auch wenn er durchaus üblich ist, in diesem Fall nicht geeignet, um eindeutige Aussagen über die Güte des Entrauschens zu treffen.

Wenn man nun die Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses als ein Gütemaß zur Beurteilung des Entrauschungsvermögens der angewendeten Methoden der Signalbehandlung nutzt, so ist die erste und wichtigste Aussage, dass durch alle in dieser Arbeit beschriebenen Methoden der Wert des SNR erhöht wird. Entscheidend ist also, dass solche

Methoden angewendet werden. Wenn man dies tut, sollte man dann natürlich noch die beste Möglichkeit wählen.

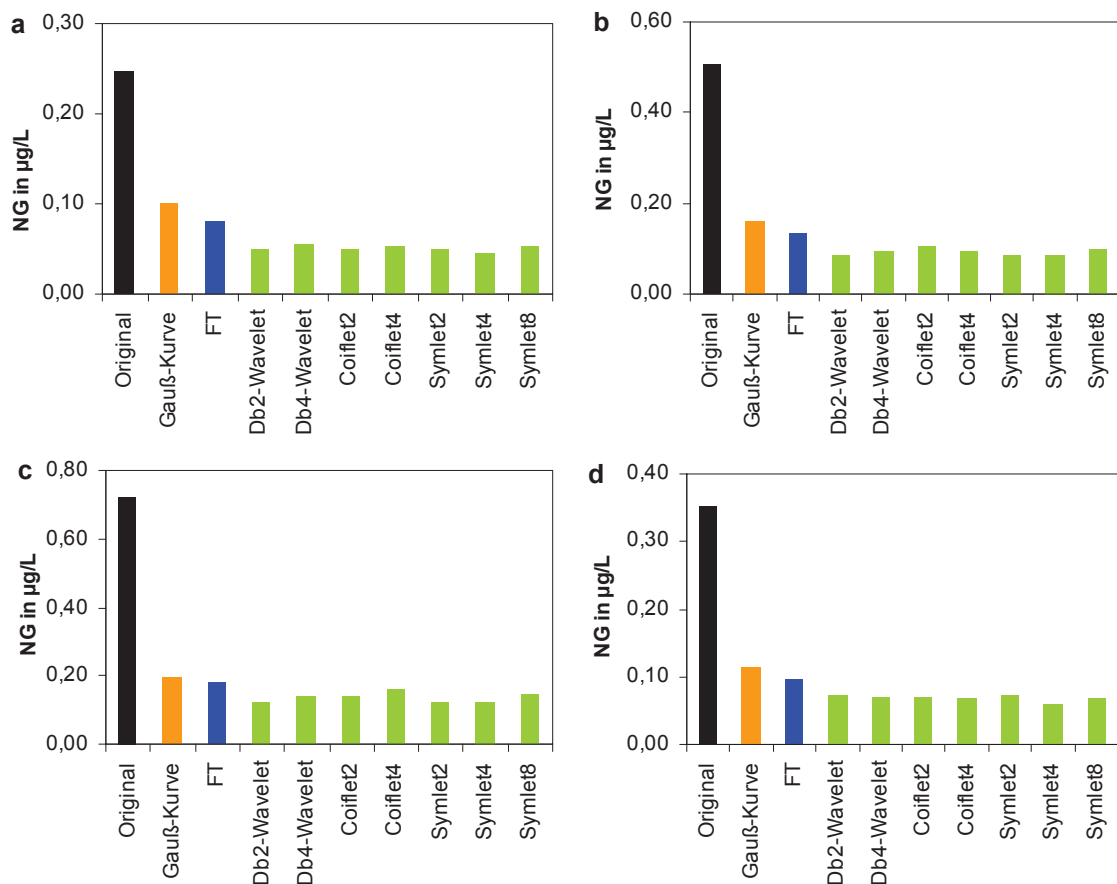


**Abb. 3.22** Signal-Rausch-Verhältnisse, berechnet aus den Originaldaten (schwarz) und nach Entrauschen mittels Gauß-Kurven (orange), Fourier-Transformation (blau) sowie verschiedener Wavelets (grün), für die Arsenspezies a) As(III), b) DMA, c) As(V) und d) AsB mit jeweils einer Konzentration von 2,4 µg/L

Durch die Faltung mit Gauß-Kurven und die Fourier-Transformation erhöht sich zwar das Signal-Rausch-Verhältnis für die Peaks der vier Arsenspezies in den Chromatogrammen, besser gelingt dies jedoch mit Hilfe der Wavelet-Transformation (Abb. 3.22). Grund hierfür ist, dass zum einen mehr Rauschen entfernt wird ( $R_{pp}$  wird erniedrigt), zum anderen aber die Analytpeaks in ihrer Höhe und Form weitestgehend erhalten bleiben. Bei der Faltung mit Gauß-Kurven und der Fourier-Transformation hingegen wird neben dem Rauschen auch immer die Peakhöhe leicht reduziert. Letzteres geschieht nicht konstant, große Peaks werden relativ gesehen stärker abgeschwächt als kleinere, wodurch die Empfindlichkeit des Analysenverfahrens sinkt.

Möchte man nun nicht nur Aussagen über einzelne Peaks verschiedener Analyten und Konzentrationen treffen, sondern generelle für den gesamten Datensatz, so lässt sich hierfür zunächst als Gütemaß des Entrauschens die aus dem Peak-zu-Peak-Rauschen berechnete Nachweisgrenze heranziehen. In Abb. 3.23 sind die Nachweisgrenzen für die vier verschiedenen Arsenspezies aus den Originalmessungen und nach dem Entrauschen als Säulendiagramm dargestellt. In diesem Fall ist das Optimierungsziel, möglichst kleine Nachweisgrenzen zu erreichen.

Eine Verminderung wird durch alle Methoden der Signalbehandlung erreicht. Doch ist auch hier die Schlussfolgerung, dass durch die Wavelet-Transformation – unabhängig vom gewählten Mutterwavelet – bessere Ergebnisse erzielt werden. Als Grund ist wiederum anzugeben, dass das Peak-zu-Peak-Rauschen stärker verkleinert wird, die Steigungen der Kalibriergeraden aber weitestgehend erhalten bleiben.



**Abb. 3.23** Nachweisgrenzen, berechnet aus den Originaldaten (schwarz) und nach Entrauschen mittels Gauß-Kurven (orange), Fourier-Transformation (blau) sowie verschiedener Wavelets (grün), für die Arsenspezies a) As(III), b) DMA, c) As(V) und d) AsB

Unabhängig von der jeweiligen Arsenspezies die betrachtet wird, ist die Faltung mit Gauß-Kurven die am wenigsten gut geeignete der verwendeten Methoden zur Verbesserung der Nachweisgrenzen, diese bleiben am größten. Die Fourier-Transformation ist für alle Analyten ein wenig besser. Die Differenz der Nachweisgrenzen nach Anwendung von FT und Wavelet-Transformation ist allerdings größer als die von FT zu denen nach dem Falten mit Gauß-Kurven. Die doch komplexeren mathematischen Hintergründe der Fourier-Transformation gegenüber der Faltung sind also nicht entscheidend in Hinblick auf das Ziel des Entrauschens.

Um die Verbesserung der Nachweisgrenze unabhängig von deren Absolutwert abschätzen und damit auch mit anderen Analysen und -methoden vergleichen zu können, wurden in den vorherigen Kapiteln bereits die Verbesserungsfaktoren eingeführt, die sich auf die aus den Originaldaten berechneten Werte beziehen. Wenn man diese über die vier Arsenspezies mittelt (Gl. 3.2), kann man die drei mathematischen Verfahren der Signalbehandlung noch objektiver beurteilen.

$$V_m = \frac{1}{4} \sum_{i=\text{As(III)}}^{\text{AsB}} \frac{c_{\text{NG;original};i}}{c_{\text{NG;entrauscht};i}} \quad \text{mit } i = \{\text{As(III)}, \text{DMA}, \text{As(VI)}, \text{AsB}\} \quad \text{Gl. 3.2}$$

Besonders nach der Wavelet-Transformation tritt nämlich der Fall auf, dass zwar die Nachweisgrenze für As(III) durch das Db4-Wavelet stärker verringert wird als durch das Coiflet4, für die Spezies As(V) ist dies jedoch genau umgekehrt.

**Tab. 3.11** Mittlere Verbesserungsfaktoren  $V_m$  der Nachweisgrenzen nach dem Entrauschen gegenüber den Originaldaten

<i>Methode</i>	<i>Gauß- Kurve</i>	<i>FT</i>	<i>Db2- Wavelet</i>	<i>Db4- Wavelet</i>	<i>Coif- let2</i>	<i>Coif- let4</i>	<i>Sym- let2</i>	<i>Sym- let4</i>	<i>Sym- let8</i>
$V_m$	3,1	3,6	5,3	5,0	5,0	5,0	5,3	5,8	5,0

Durch die mittleren Verbesserungsfaktoren ( $V_m$ ) (Tab. 3.11) lassen sich die angewendeten Methoden grob in drei Gruppen unterteilen:

- Am geringsten ist das Entrauschungsvermögen der Faltung mit Gauß-Kurven und der Fourier-Transformation ( $V_m$  zwischen 3,1 und 3,6),
- gefolgt von der Gruppe des stärker symmetrischen Db4-Wavelets, Coiflets2, Coiflets 4 und Symlets8 ( $V_m$  zwischen 5,0 und 5,1).
- Am besten kann man die vorliegenden Chromatogramme mittels Wavelet-Transformation unter Verwendung des Db2-Wavelets sowie von Symlet2 und Symlet4 entrauschen ( $V_m$  zwischen 5,3 und 5,8).

Mittels Symlet4, dessen Eigenschaften besonders hinsichtlich der Symmetrie zwischen den stark asymmetrischen und den fast symmetrischen Wavelets stehen, werden die vorliegenden Chromatogramme optimal entrauscht, was zu Nachweisgrenzen für die vier Arsenspezies von 0,04 µg/L (As(III)), 0,09 µg/L (DMA), 0,12 µg/L (As(V)) sowie 0,06 µg/L (AsB) führt. Dies entspricht einer Verbesserung von durchschnittlich Faktor 5,8.

## 4 Entrauschen bei stark veränderlicher Basislinie

Bei der im Kapitel 3 beschriebenen Hochleistungsflüssigkeitschromatographie verläuft die Basislinie linear und parallel zur Zeit-Achse. Das heißt, das Rauschen erstreckt sich um einen konstanten Mittelwert, wodurch nur die Streuung des Rauschens, charakterisiert durch das Peak-zu-Peak-Rauschen, von Bedeutung ist. Dies erleichtert das Entrauschen mittels der vorgestellten mathematischen Methoden der Signalbehandlung. Weiterhin ist die Basislinie zumindest für die Zeitdauer einer Kalibrierung nahezu konstant, d.h. ihr Mittelwert wird weder erhöht noch verringert. Auch das ist von Vorteil, da eine sich eventuell sogar während der Messung verändernde Basislinie die Auswertung erschwert und einen weiteren Streu- oder Rauschbeitrag darstellt.

Es gibt aber auch Methoden der analytischen Chemie, bei denen keine konstante Basislinie zu beobachten ist. Dies ist beispielsweise in der Voltammetrie der Fall. Auf Grund verschiedener Elektrodevorgänge ändert sich die gemessene Stromstärke beim vorgegebenen Spannungsverlauf erheblich, auch wenn kein Analyt anwesend ist. Wenn die Strom-Spannungs-Kurve des Blindwertes konstant wäre, könnte sie rechnerisch eliminiert werden. Allerdings sind Blindwertkurven bereits bei Wiederholmessungen deutlich unterschiedlich.

Aufgabe ist es aus diesen Gründen zu untersuchen, welche der drei vorgestellten mathematischen Methoden der Signalbehandlung am besten in der Lage ist, die Probleme einer strukturierten und sich während einer Kalibrierreihe ändernden Basislinie beim Entrauschen auszugleichen.

### 4.1 Bestimmung von Cadmium mittels inverser Voltammetrie

Als Beispiel für das Entrauschen beim Vorliegen einer sich stark veränderlichen Basislinie findet die Bestimmung von Cadmium mittels inverser Voltammetrie als analytische Aufgabenstellung Anwendung. Cadmium ist dabei ein in der Regel recht gut zu analysierendes Element. Die Nachweisgrenzen liegen je nach eingestellter Anreicherungszeit laut aktueller Literatur bei rund  $0,01 \mu\text{g/L}$  [98], wobei dieser Wert auf bereits im Jahr 1976 publizierte Arbeiten zurückgeht [99].



Auf Grund seines hohen Nachweisvermögens findet die Bestimmung von Cadmium mittels inverser Voltammetrie nach wie vor Anwendung, insbesondere wenn es Vorgaben gibt, dieses Element im Ultraspurenbereich zu analysieren und empfindlichere Analysemethoden nicht zur Verfügung stehen. Dies ist für die Überprüfung der Konzentrationen und Gehalte in Wasser bzw. Sediment von Flüssen von Bedeutung, wie beispielsweise in Hinblick auf die Überschreitung der Zielvorgabe zum Schutz aquatischer Lebensgemeinschaften der Internationalen Kommission zum Schutz der Elbe [100, 101].

#### 4.1.1 Experimentelles

Als voltammetrischer Messplatz stand für die experimentellen Arbeiten ein Polarograph 757 VA Computrace (Deutsche Metrohm, Filderstadt) zur Verfügung. Ausgestattet ist dieser mit einer Multi-Mode-Elektrode, die in Form eines hängenden Quecksilbertropfens als Arbeitselektrode genutzt wurde. Referenzelektrode ist eine Silber-Silberchlorid-Elektrode in 3 M Kaliumchloridlösung, die Hilfselektrode besteht aus Platin. Um den im Wasser gelösten Sauerstoff aus den Messzellen zu vertreiben, wurde vor den Messungen jeweils für 200 s mit Stickstoff (99,999 %, Linde, Pullach) entlüftet. Die Anreicherung des Analyten in der Quecksilberelektrode fand für eine Zeit von 100 s bei einem Potenzial von -0,8 V statt.

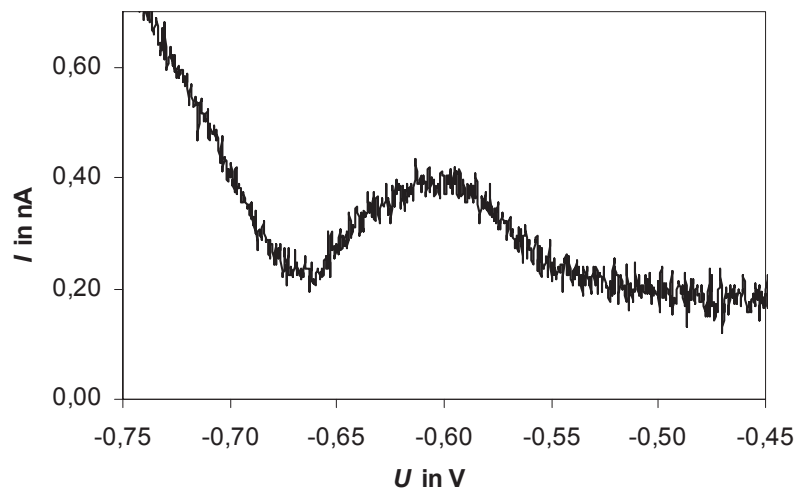
Der sich anschließende Bestimmungsschritt erfolgte im Differenz-Puls-Modus. Dabei wurde der Potenzialbereich von -0,8 bis -0,3 V in Schrittweiten von ca. 0,46 mV durchlaufen, was 1093 Datenpunkte pro Voltammogramm ergibt. Auf die sich linear ändernde Potenzialkurve wurden im Abstand von 0,4 s Pulse in Höhe von 0,05 V für eine Zeit von 0,04 s gesetzt.

Das Volumen der Messlösung betrug 10 mL. Als Leitelektrolyt darin fungierte Salzsäure der Konzentration 0,1 mol/L. Alle Lösungen wurden in doppelt destilliertem Wasser angesetzt. Aus einer Standardlösung von  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  in Salpetersäure (1000 mg/L, Merck, Darmstadt) wurden zunächst durch sukzessives Verdünnen Lösungen der Cadmiumkonzentration  $c_{\text{Cd}} = 500 \mu\text{g/L}$  und  $c_{\text{Cd}} = 50 \mu\text{g/L}$  hergestellt. Diese konnten bis zur Durchführung der Kalibrierung angesäuert mit Salpetersäure bei 4 °C im Dunkeln gelagert werden.

#### 4.1.2 Auswertung der Originaldaten

Nach Voruntersuchungen sollte die Kalibrierung zur Berechnung der Nachweisgrenze im Konzentrationsbereich von 0,01 bis 0,06 ng/L erfolgen, um die Voraussetzungen der DIN 32645 [48] zu erfüllen. Größtes Problem dabei sind die auftretenden Blindwerte. Selbst bei Beachtung und Eliminierung aller Chemikalienblindwerte (Kaliumchloridlösung, Salzsäure, doppelt destilliertes Wasser) war es nicht möglich, nach Ansetzen von Kalibrierstandards in Messkolben aus Glas eine sinnvolle Kalibrierung vorzunehmen. Als Grund dafür ist die Kontamination der Glasgeräte mit Spuren an Cadmium anzunehmen, die unterschiedlich stark in die Lösungen eingetragen werden können.

Deshalb wurde die Kalibrierung in Form einer Standardaddition auf den Blindwert durchgeführt: Nach Messung des Blindwertes, der nur den Leitelektrolyten enthielt, wurden sukzessive 2  $\mu\text{L}$  der Zwischenverdünnung mit der Konzentration 50  $\mu\text{g/L}$  in die Messzelle gegeben, sodass am Ende eine Kalibrierreihe mit sechs Standards im geplanten Bereich von 0,01 bis 0,06 ng/L vorlag. An jedem Kalibrierpunkt erfolgte eine Fünffachbestimmung.

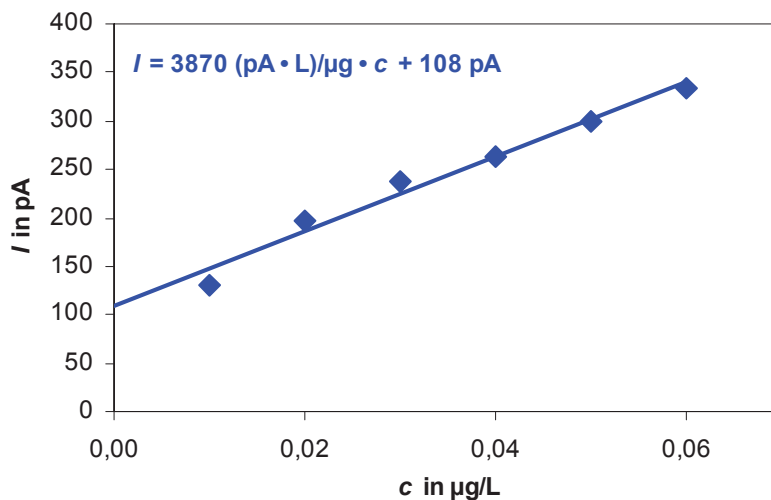


**Abb. 4.1** Voltammogramm von Cadmium bei einer Konzentration von 0,03  $\mu\text{g/L}$

Das Peakmaximum für Cadmium liegt bei einem Potenzial von ca. -0,59 V (Abb. 4.1). Die Voltammogramme sind stark verrauscht, wobei die Frequenz des Rauschens deutlich höher ist als die der recht breiten Peaks, sodass diese trotzdem gut erkannt und ausgewertet werden können.

Bei der Bestimmung der Peakhöhen mussten auf Grund der sich sehr veränderten Grundstromlinie Basislinien individuell angelegt werden.

Die sich ergebende Kalibrierfunktion (Abb. 4.2) weist eine Steigung von  $3870 \text{ (pA} \cdot \text{L)/}\mu\text{g}$  auf, sowie einen Ordinatenabschnitt von  $108 \text{ pA}$ . Weiterhin berechnet sich eine Reststandardabweichung von  $12,9 \text{ pA}$ . Für die Bestimmung des Peak-zu-Peak-Rauschens ergeben sich zunächst, über Grundstromlinien-bereinigte (d.h. der Mittelwert liegt bei  $0 \text{ pA}$ ) Blindwertmessungen, Standardabweichungen zwischen  $19,8$  und  $21,1 \text{ pA}$ . Die mittlere Standardabweichung beträgt dabei  $20,5 \text{ pA}$ . Somit liegen im Mittel Schranken ( $k = 2,58$ ) von  $\pm 52,9 \text{ pA}$  vor, über bzw. unter denen durchschnittlich 15 Datenpunkte zu finden sind. Letztendlich ergibt sich ein Peak-zu-Peak-Rauschen von  $122 \text{ pA}$ .



**Abb. 4.2** Kalibrierkurve für Cadmium im Bereich von  $0,01$  bis  $0,06 \mu\text{g/L}$

Die aus  $R_{pp}$  berechneten Signal-Rausch-Verhältnisse liegen, ähnlich wie bereits bei den Auswertungen der Chromatogramme in Kapitel 3, im Bereich von  $1,06$  bis  $2,74$ . Dies sind nahe der Nachweisgrenze durchaus übliche Werte.

Die Berechnung der Nachweisgrenze selbst erfolgt zunächst ebenfalls direkt aus dem Peak-zu-Peak-Rauschen. Es ergibt sich ein Wert von  $c_{NG} = 15,78 \text{ ng/L}$ . Zum Vergleich sei noch die Nachweisgrenze, berechnet aus den Kalibrierkenndaten [48] angegeben: Für eine einseitige Irrtumswahrscheinlichkeit von  $95 \%$  ist diese  $c_{NG} = 7,37 \text{ ng/L}$ .

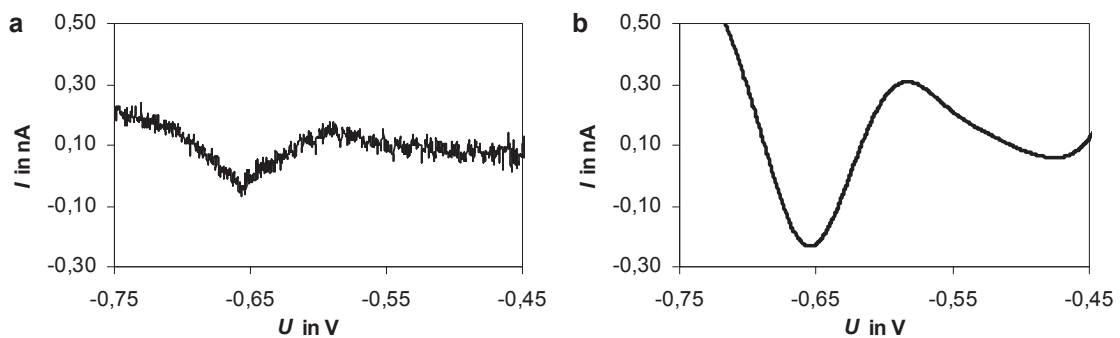
Beide Werte liegen wieder in derselben Größenordnung und weiterhin nicht weit entfernt vom gefundenen Literaturwert (ca.  $10 \text{ ng/L}$ ). Jedoch kann die Nachweisgrenze durch Optimierung der Messmethode durchaus noch verbessert werden. Allein durch Erhöhen der Anreicherungszeit auf  $200 \text{ s}$  können Nachweisgrenzen von nur  $2 \text{ ng/L}$  erreicht werden [101], Anreicherungszeiten bis  $60 \text{ min}$  sind aber durchaus denkbar [65]. Da es in dieser Arbeit jedoch um den Einsatz von Methoden der Signalbehandlung zum Entrauschen gehen soll, ist die aus den Originaldaten berechnete Nachweisgrenze weniger entscheidend

als die relativen Verbesserungen. Deswegen wurde an dieser Stelle auf die wesentlich längeren Messzeiten verzichtet.

#### 4.2 Schwierigkeiten bei Faltung mit Gauß-Kurven

Analog zum Vorgehen in Kapitel 3 soll zunächst die Faltung mit Gauß-Kurven als Mittel zum Entrauschen der vorliegenden Voltammogramme genutzt werden.

Wie beschrieben, ist es dafür entscheidend, den Parameter  $\sigma$  der Gauß-Kurve so zu wählen, dass deren Halbwertsbreite etwa 60 % der Halbwertsbreite der Analytpeaks aufweist. Die Strompeaks von Cadmium sind, wie bereits erwähnt, recht breit,  $w_{0,5}$  liegt bei etwa 0,08 V. Somit wird die Halbwertsbreite der Gauß-Kurve mit 0,05 V vorgegeben.



**Abb. 4.3** a) Originalvoltammogramm von Cadmium bei einer Konzentration von 0,02 µg/L und b) dasselbe Voltammogramm, entrauscht durch Falten mit einer Gauß-Kurve

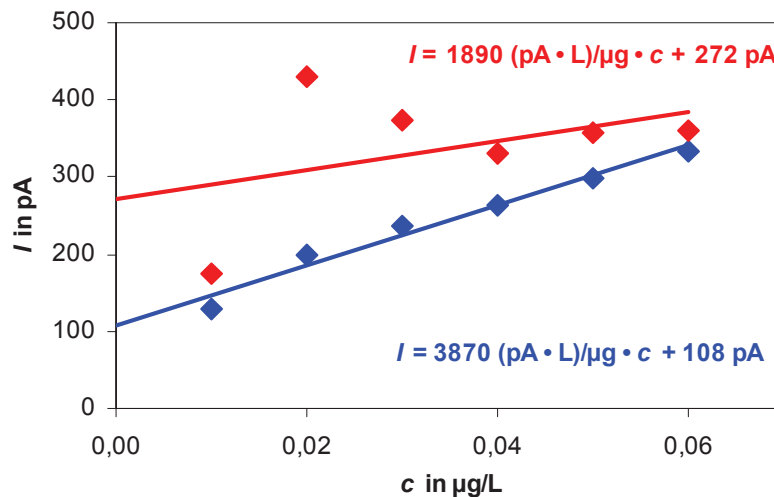
Durch das Falten mit diesen Gauß-Kurven werden die Voltammogramme grundsätzlich sehr gut entrauscht (Abb. 4.3). Das Peak-zu-Peak-Rauschen liegt hinterher bei nur 2,22 pA, es tritt also eine Verbesserung um den Faktor 55,0 auf.

Dieser Wert liegt eine Größenordnung über allen Faktoren, die beim Entrauschen von Chromatogrammen (Kapitel 3) erzielt werden konnten. Ein Grund hierfür könnte sein, dass die Rauschamplitude im Fall der Voltammetrie höher liegt als in der Chromatographie. Dadurch wäre absolut gesehen mehr Rauschen vorhanden, das entfernt werden kann, wodurch größere relative Verbesserungen auftreten.

Ein weiterer Grund ist, dass das Rauschen in der Voltammetrie offensichtlich sehr hoch frequent auftritt. Schwingungen niederer Frequenz innerhalb einer Signalkurve sind seltener, und kommen eher in Form der sich ändernden Basislinie zum Vorschein. Diese Stör-

anteile am Messsignal sind häufig noch niedriger frequent als die Analytpeaks selbst und können deswegen mit den vorliegenden Methoden der Signalbehandlung weniger gut entfernt werden.

Betrachtet man neben dem reinen Rauschen allerdings noch weitere Parameter, die sich durch das Falten mit Gauß-Kurven verbessern sollten, so ergeben sich Schwierigkeiten. Wertet man über den gesamten Konzentrationsbereich aus und führt die Kalibrierung als lineare Regression durch (Abb. 4.4), so ergäbe sich formal berechnet bereits eine deutlich schlechtere Steigung ( $a_1 = 1890 \text{ (pA} \cdot \text{L)/}\mu\text{g}$ ), was ungünstig ist für die Verbesserung der Nachweisgrenze. Auch die Reststandardabweichung wäre mit 88,9 pA gegenüber der Auswertung der Originaldaten stark erhöht.



**Abb. 4.4** Kalibrierkurve für Cadmium aus den Originaldaten (blau) und nach Faltung mit Gauß-Kurven (rot)

Die Kalibrierpunkte streuen viel stärker um die Regressionsgerade, allerdings nicht gleichmäßig. Ein durchgeführter Mandeltest [102] ergibt, dass keine Linearität gegeben ist. Allerdings kann durch die Kalibrierpunkte auch keine quadratische Ausgleichsfunktion sinnvoll gelegt werden.

Der Grund für die ungleichmäßige Änderung einzelner Kalibrierpunkte und damit der Voltammogramme ist in der stark strukturierten Basislinie zu suchen. Durch den zu Beginn der Messungen teilweise steil abnehmenden Grundstrom ergibt sich mit dem Beginn des Cadmiumpeaks bei etwa -0,66 V bei einigen Voltammogrammen eine nach unten gerichtete Spitze. Beim Falten mit Gauß-Kurven kann es dazu kommen, dass diese Spitze etwas in Richtung kleinerer Stromstärken verstärkt wird (vgl. Abb. 4.3). Da diese allerdings Anatz-

punkt zum Anlegen von Basislinien zur Ermittlung der Peakhöhen ist, kann es dazu kommen, dass Peaks überdurchschnittlich vergrößert werden. Da sich die Grundstromlinie unabhängig von der Analytkonzentration von Messung zu Messung ändert und die Abweichungen auch über die Fünffachbestimmung nicht gemittelt werden können, kommt es zur dargestellten formalen Kalibrierfunktion.

Zusammenfassend ergibt sich, dass die Faltung mit Gauß-Kurven auf Grund messtechnischer Schwierigkeiten in der Voltammetrie keine sinnvolle Anwendung finden kann, gleichwohl das reine Peak-zu-Peak-Rauschen um den beeindruckenden Faktor von 55,0 reduziert wird.

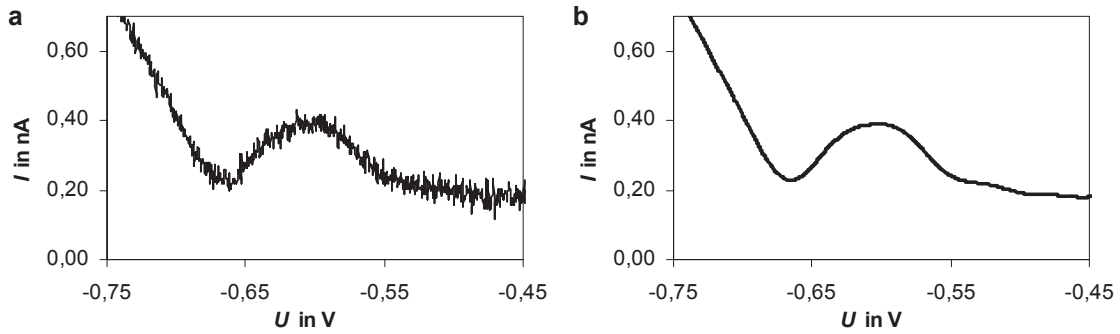
### **4.3 Erfolgreiches Entrauschen mit Fourier- und Wavelet-Transformation**

#### **4.3.1 Abschätzung der Grenzfrequenz und Verwendung der Fourier-Transformation**

Vor der eigentlichen Anwendung der Fourier-Transformation zum Entrauschen der Voltammogramme sollte wiederum die Wahl der Grenzfrequenz  $\nu_0$  abgeschätzt werden.

Dazu wurden für  $\nu_0 = 10, 20, 50$  bzw.  $100$  die Signal-Rausch-Verhältnisse für die Cadmiumpeaks berechnet. Zunächst ist festzustellen, dass das Rauschen in allen Fällen deutlich reduziert wird ( $R_{PP} = 1,73 \text{ pA}, 0,900 \text{ pA}, 7,96 \text{ pA}$  bzw.  $8,80 \text{ pA}$ ). So steigen auch die Signal-Rausch-Verhältnisse stark an. Bei einer Grenzfrequenz von  $10$  liegt das SNR für eine Cadmiumkonzentration von  $0,06 \text{ } \mu\text{g/L}$  durchschnittlich bei  $128$ , für  $\nu_0 = 20$  bei  $221$ . Für die größeren Werte der Grenzfrequenz erhöht sich das SNR weit weniger stark gegenüber der Auswertung der Originalvoltammogramme und liegt nur bei  $9,79$  bzw.  $7,75$  für  $\nu_0 = 50$  und  $\nu_0 = 100$ .

Auf Basis dieser Voruntersuchung wird eine optimale Grenzfrequenz von  $20$  angenommen und im Folgenden verwendet. Dabei zeigt sich, dass das Rauschen, wie bereits bei der Faltung mit Gauß-Kurven gezeigt, beachtlich verringert wird (Abb. 4.5). Die Verbesserung von  $R_{PP}$  gegenüber dem Rauschen der Originaldaten beträgt Faktor  $136$ .



**Abb. 4.5** a) Originalvoltammogramm von Cadmium bei einer Konzentration von 0,03 µg/L und b) entrauscht mittels Fourier-Transformation

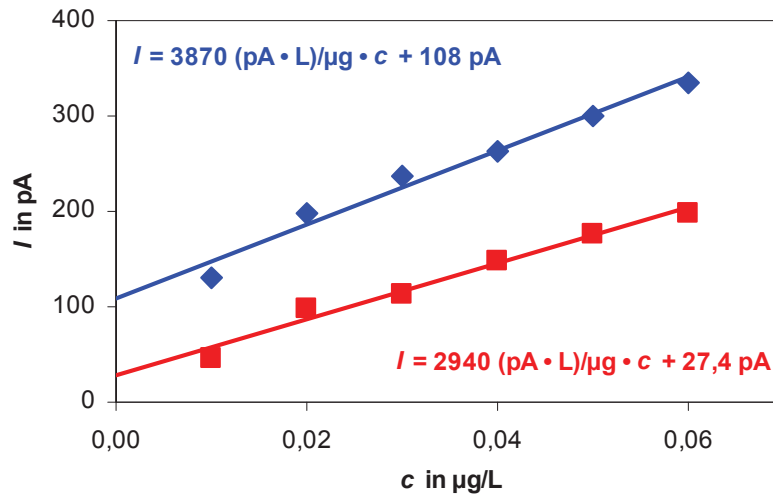
Allerdings tritt auch hier wieder der Effekt auf, dass die Signalhöhen nicht vollständig erhalten bleiben, die Peaks werden etwas erniedrigt. Dadurch sind die Verbesserungsfaktoren bei den Signal-Rausch-Verhältnissen nicht ganz so hoch, liegen mit Werten zwischen 49 und 81 (Tab. 4.1) aber trotzdem noch höher als jene, die bei der Auswertung von Chromatogrammen (Kapitel 3) festzustellen sind. Die Signal-Rausch-Verhältnisse liegen nach dem Entrauschen mittels Fourier-Transformation zwischen 52 und 221. Damit liegen die zugehörigen Konzentrationen bei einer Abschätzung aus dem SNR weit über der Nachweisgrenze.

**Tab. 4.1** Signal-Rausch-Verhältnisse der Originalvoltammogramme und nach dem Entrauschen mittels Fourier-Transformation mit Verbesserungsfaktoren

$c_{Ca}$ in µg/L	SNR (Original)	SNR (nach FT)	Verbesserungsfaktor
0,01	1,06	51,8	48,9
0,02	1,62	109	67,6
0,03	1,95	126	64,7
0,04	2,15	164	76,0
0,05	2,45	196	79,9
0,06	2,74	221	80,7

Dass die Peakhöhen gegenüber den originalen beim Entrauschen nicht erhalten bleiben, hat auch wieder Einfluss auf die Kalibrierfunktion (Abb. 4.6). Diese ist zum einen entlang der Stromachse nach unten verschoben, der Ordinatenabschnitt ist nun bei 27,4 pA zu finden. Zum anderen ist die Steigung mit 2940 (pA · L)/µg geringer, was wiederum darauf zurückzuführen ist, dass die Verringerung der Peakhöhen nicht konstant geschieht. Höhere Peaks werden stärker gedämpft als niedrigere.

Die Reststandardabweichung der Kalibrierpunkte beträgt nach dem Entrauschen 8,57 pA und ist damit geringfügig kleiner als vorher.



**Abb. 4.6** Kalibrierkurve für Cadmium aus den Originaldaten (blau) und nach Entrauschen mittels Fourier-Transformation (rot)

Da das Rauschen stark reduziert ist und die Signal-Rausch-Verhältnisse gestiegen sind, ist auch der Wert der aus  $R_{pp}$  berechneten Nachweisgrenze erheblich gesunken. Diese liegt nun bei nur 0,15 ng/L, was einer Verbesserung um Faktor 103 entspricht.

Die Fourier-Transformation ist ganz offensichtlich ein hervorragend geeignetes Mittel zum Entrauschen der vorliegenden Voltammogramme.

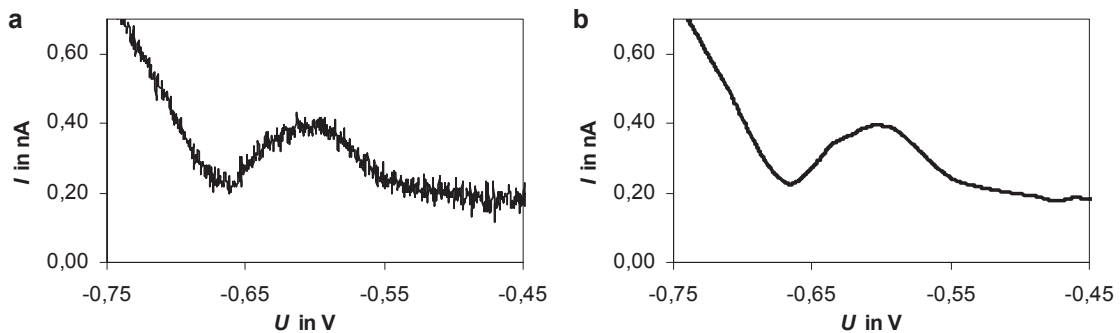
#### 4.3.2 Einsatz verschiedener Wavelets zum Entrauschen

Nachdem die Wavelet-Transformation beim Entrauschen von Chromatogrammen besser geeignet ist als die FT, ist dies grundsätzlich auch für den Einsatz bei Voltammogrammen zu erwarten. Diese Annahme ist zu prüfen, und es gilt herauszufinden, ob dieselben Mutterwavelets bei Signalen mit stark veränderlicher Basislinie geeignet sind.

Dies kann so zunächst nicht bestätigt werden. Bei Verwendung von Wavelets der Daubechies-Familie treten in den behandelten Signalen immer wieder Irregularitäten auf, die die Auswertung erheblich stören, Peaks werden teilweise richtig deformiert. Auf eine ausführliche Auswertung mittels Daubechies-Wavelets wird deshalb verzichtet.



Aus der Familie der Coiflets werden wiederum Coiflet2 und Coiflet4 gewählt. In beiden Fällen erfolgte die Zerlegung des Originalsignals auf fünf Ebenen und die Rücktransformation mit hartem Schwellwert. Die optische Begutachtung des Entrauschungsvermögens (Abb. 4.7) fällt dabei sehr positiv aus. Das Rauschen ist weitestgehend verschwunden, die Stromkurve verläuft entlang ihrer strukturierten Basislinie recht glatt. Die Unterschiede zu den mit FT entrauschten Voltammogrammen sind auf den ersten Blick gering und im hier gezeigten Beispiel (Abb. 4.5b und 4.7b) nur im Potenzialbereich um -0,64 und -0,46 zu erkennen.



**Abb. 4.7** a) Originalvoltammogramm von Cadmium bei einer Konzentration von 0,03  $\mu\text{g/L}$  und b) entrauscht mittels Coiflet2

Beim numerischen Vergleich des noch vorhandenen Rauschens wird der Unterschied deutlicher. Für Coiflet2 liegt  $R_{PP}$  bei 0,335 pA, für Coiflet4 bei 0,370 pA. Da die Spitzenstromstärken recht gut erhalten bleiben, ist auch eine noch stärkere Erhöhung des Signal-Rausch-Verhältnisses festzustellen (Tab. 4.2).

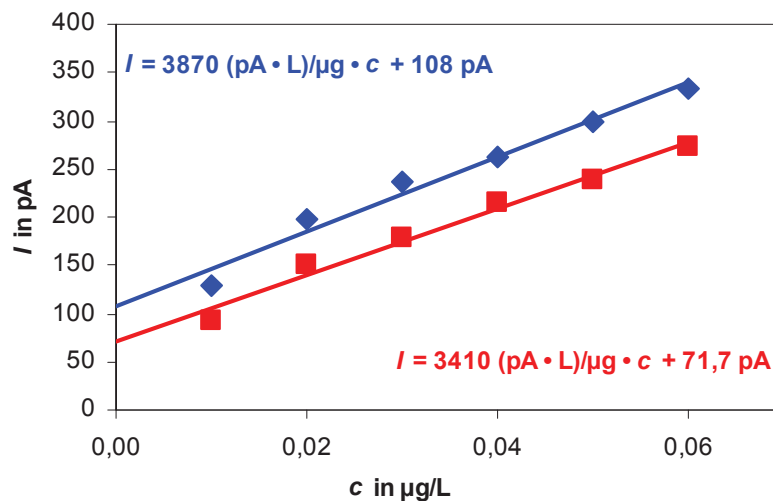
**Tab. 4.2** Signal-Rausch-Verhältnisse nach dem Entrauschen mittels Coiflet2 und Coiflet4 mit Verbesserungsfaktoren

$c_{Cd}$ in $\mu\text{g/L}$	Coiflet2		Coiflet4	
	$SNR$	<i>Verbesserungsfaktor</i>	$SNR$	<i>Verbesserungsfaktor</i>
0,01	278	262	277	261
0,02	449	278	399	246
0,03	534	274	478	246
0,04	643	298	568	264
0,05	711	290	668	273
0,06	813	297	730	267

Die SNRs sind mit Verbesserungsfaktoren von bis zu 300 sehr deutlich erhöht worden, auf Grundlage dieser Zahlen würde man auf keinen Fall mehr von einer Kalibrierreihe in der Nähe der Nachweisgrenze sprechen.

Um auch die Berechnung der Nachweisgrenzen durchführen zu können, werden zunächst die neu entstehenden Kalibrierfunktionen (Abb. 4.8) berechnet. Diese sind für Coiflet2 und Coiflet4 wie zu erwarten etwas nach unten verschoben ( $a_0 = 71,7$  pA bzw.  $a_0 = 75,3$  pA), allerdings weit weniger stark als bei Anwendung der FT.

Auch die Empfindlichkeiten sind zwar verringert, aber weit weniger ausgeprägt. Die Steigungen liegen bei  $a_1 = 3410$  (pA · L)/μg bzw.  $a_1 = 3340$  (pA · L)/μg.



**Abb. 4.8** Kalibrierkurve für Cadmium aus den Originaldaten (blau) und nach Entrauschen mittels Coiflet2 (rot)

Die Nachweisgrenzen im Fall des Einsatzes von Coiflet2 ( $c_{NG} = 0,05$  ng/L) und Coiflet4 ( $c_{NG} = 0,06$  ng/L) drücken nun auch aus, dass die Wavelet-Transformation eine durchaus beeindruckende Methoden zum Entrauschen von Voltammogrammen ist. Sie werden dabei um den Faktor 322 bzw. 285 verbessert.

Da bei den in Kapitel 3 beschriebenen Untersuchungen Vertreter der Symlet-Familie zur Gruppe der am besten entrauschenden Wavelets zählten, wäre es möglich, dass diese bereits erreichten Verbesserungsfaktoren noch gesteigert werden können. Um dies zu prüfen, werden Symlet2 und Symlet8 auf die vorliegenden Voltammogramme angewendet.

Diese werden auch hierbei deutlich entrauscht, die Werte für  $R_{pp}$  liegen bei 1,00 pA bzw. 0,442 pA. Ebenso bleiben die Peakhöhen recht gut erhalten, was sich in gesteigerten Sig-

nal-Rausch-Verhältnissen ausdrückt. Diese werden für eine Konzentration von  $0,06 \mu\text{g/L}$  durchschnittlich um Faktor 103 bzw. 209 erhöht.

Die Steigung der Kalibrierkurve ist mit  $3340 (\text{pA} \cdot \text{L})/\mu\text{g}$  nach dem Entrauschen mit Symlet2 am ähnlichsten zum Wert, der aus den Originalvoltammogrammen berechnet werden konnte. Da das Rauschen aber noch deutlich höher liegt als nach der Transformation mit den anderen Wavelets, wird die Nachweisgrenze ( $c_{\text{NG}} = 0,15 \text{ ng/L}$ ) „nur“ um Faktor 108 verringert, was natürlich immer noch ein erheblicher Fortschritt ist. Die Nachweisgrenze nach dem Entrauschen mit Symlet8 liegt bei  $0,06 \text{ ng/L}$  (Faktor 265).

#### 4.4 Vergleich der verwendeten Methoden der Signalbehandlung

Da die Grundstromlinien in der inversen Voltammetrie relativ stark strukturiert sein können und diese auch nicht konstant bei allen Messungen vorliegen, war zu prüfen, ob Methoden der Signalbehandlung ebenfalls bei der Entrauschung von Voltammogrammen helfen können.

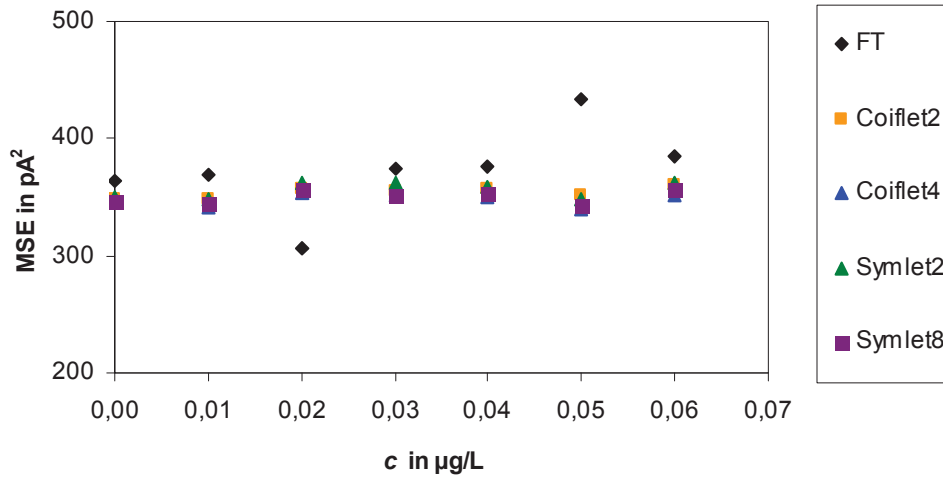
Für die Faltung mit Gauß-Kurven ist dies offensichtlich nicht der Fall. Zwar wird das Peak-zu-Peak-Rauschen minimiert, die Analytpeaks werden aber teilweise deformiert, so dass keine sinnvolle Kalibrierung mehr erfolgen kann.

Anders sieht es bei Anwendung der Fourier- und der Wavelet-Transformation aus. Hier zeigt sich, dass alle Methoden, abhängig von der verwendeten Grenzfrequenz und vom eingesetzten Mutterwavelet, zum Entrauschen geeignet sind. Das drückt sich in zwei- bis dreistelligen Verbesserungsfaktoren aus. Grund hierfür ist wohl, dass das Rauschen höher frequent ist als bei den im Kapitel 3 beschriebenen Chromatogrammen, und somit vom Analytpeak unterschieden werden kann. Gleichzeitig ist die Rauschamplitude aber auch recht hoch, was dazu führt, dass relativ gesehen größere Unterschiede zwischen Voltammogrammen vor und nach dem Entrauschen zu beobachten sind.

Für die FT wird eine optimale Grenzfrequenz von  $\nu_0 = 20$  vorgeschlagen, von Seiten der WT stehen als Funktionen Coiflet2, Coiflet4, Symlet2, und Symlet8 für einen weiteren Vergleich zur Verfügung.

Zunächst soll der Vergleich wieder über die Berechnung der MSE-Werte erfolgen. Bedauerlicherweise können jedoch wiederum keine deutlichen Unterschiede zwischen den Trans-

formationsmethoden festgestellt werden (Abb. 4.9). Zwar liegen die Werte für die Fourier-Transformation in der Regel immer etwas über den entsprechenden Werten der anderen Methoden, allerdings sind die Unterschiede nicht signifikant.



**Abb. 4.9** MSE-Werte als Funktion der Cadmiumkonzentration für fünf Transformationsmethoden

Deshalb sollen für den Vergleich die Nachweisgrenzen dienen, die die Verminderung des Rauschens genauso einbeziehen wie den Erhalt der Peakhöhen, wobei letzteres durch die Steigung über den gesamten Konzentrationsbereich gemittelt ist.

Die Nachweisgrenzen (Tab. 4.3) befinden sich nach dem Entrauschen alle im selben Konzentrationsbereich, d.h. auch hier zeigt sich, dass die Unterschiede zwischen den einzelnen Methoden nicht zu ausgeprägt sind. Die Verbesserungsfaktoren sind dreistellig und liegen zwischen 100 und 325.

**Tab. 4.3** Nachweisgrenzen für Cadmium mittels DPASV nach dem Entrauschen und Verbesserungsfaktoren gegenüber der ursprünglichen Nachweisgrenze von 15,78 ng/L

<i>Methode</i>	<i>NG in ng/L</i>	<i>Verbesserungsfaktor</i>
Fourier-Transformation	0,15	103
Coiflet2	0,05	322
Coiflet4	0,06	285
Symlet2	0,15	108
Symlet8	0,06	265

Die Wavelet-Transformationen sind der FT wiederum überlegen. Doch sind es im Fall der Entrauschung von Voltammogrammen interessanterweise andere Wavelets, die die Nach-

weisgrenze am deutlichsten senken können. Das bei Chromatogrammen als mit am besten bestätigte Symlet2 entrauscht die vorliegenden Voltammogramme nur ebenso gut wie die Fourier-Transformation, die Daubechies-Wavelets führen zu Irregularitäten und Artefakten in den Signalkurven und können deshalb nicht sinnvoll ausgewertet werden. Sie werden zum Vergleich deshalb nicht hinzugezogen.

Die höchsten Verbesserungsfaktoren sind für diejenigen Wavelets festzustellen, die bei Anwendung auf Chromatogramme nur in der zweitbesten Gruppe waren: Coiflet2, Coiflet4 und Symlet8. Diese sind alle stark symmetrisch ausgeprägt und scheinen von daher bei vorliegender stark strukturierter und veränderlicher Basislinie das höher frequente Rauschen besser vom breiten Analytpeak abtrennen zu können.

Zu hohe Symmetrie der Wavelets ist dabei aber wohl nicht das Optimum, da nach dem Entrauschen mittels Coiflet2 die Nachweisgrenze für Cadmium am geringsten ist, dessen Form aber weniger stark symmetrisch geprägt ist, als beispielsweise die von Coiflet4 und Symlet8. Die Nachweisgrenze nach Anwendung von Coiflet2 liegt bei 0,05 ng/L und wurde somit um den beeindruckenden Faktor von 322 verbessert.

## 5 Entrauschen von zwei- und dreidimensionalen Spektren

Bei den bisher gezeigten Beispielen handelt es sich um klassische, zweidimensionale Signalkurven. Das heißt, ein Signal (zum Beispiel der Diffusionsgrenzstrom) wird als Funktion einer Variablen (in diesem Beispiel dann das angelegte Potenzial) aufgezeichnet. Daneben gibt es aber auch eine Reihe von Techniken, durch die der Analytiker dreidimensionale Signale erhält, bei denen das aufgezeichnete Signal von zwei Variablen abhängig ist. Eine dieser Methoden ist die High-Resolution-Continuum-Source-AAS (HR-CS-AAS) bei der die gemessene Extinktion als Funktion der Zeit (wie bei den klassischen AAS-Techniken) und der Wellenlänge des eingestrahnten Lichtes dargestellt werden kann.

Vorteile dabei sind, wie beschrieben [74, 75], die spektrale Umgebung eines Analytpeaks sichtbar und damit interpretierbar zu machen. Derzeitige Entwicklungen konzentrieren sich darauf, auch die Bestimmung von Nichtmetallen mittels eines Atomabsorptionsspektrometers zu ermöglichen [68, 103] (vgl. Kapitel 2.2.3). Das zeigt, wie aktuell die Forschung im Bereich der HR-CS-AAS ist, welche neuen Wege noch offen stehen. Gerade bei neuen Methoden, die noch in der Entwicklung stehen, gibt es oft keine Möglichkeit oder Erfahrung, auftretendes Rauschen über die Gerätesteuerung zu vermeiden. Deshalb ist der Einsatz von Mitteln der Signalbehandlung wünschenswert.

Des Weiteren bietet sich hier über AAS-Messungen ein direkter Vergleich zwischen dem Entrauschen von zwei- und dreidimensionalen Spektren an, was am Beispiel der Anwendung von Wavelet-Transformationen geschehen soll.

### 5.1 Bestimmung von Cadmium mittels Atomabsorptionsspektrometrie mit elektrothermischer Atomisierung

#### 5.1.1 Experimentelles

Für die praktischen Arbeiten stand ein High-Resolution-Continuum-Source-Atomabsorptionsspektrometer contrAA 700 (Analytik Jena, Jena) zur Verfügung. Als Atomisierungseinheit dienten dabei quer geheizte Graphitrohre, die eine integrierte PIN-Plattform aufweisen. Als Analyt wurde Cadmium gewählt, für welches bereits eine optimierte Methode zur Verfügung steht [104]. Diese sieht ein Temperatur-Zeit-Programm mit drei Trocknungsschritten vor (Tab. 5.1). Die eigentliche Messung erfolgt bei einer Atomisierungstemperatur von 1200 °C.

**Tab. 5.1** Temperatur-Zeit-Programm für die Bestimmung von Cadmium mittels AAS

<i>Schritt</i>	<i>Heizrate in °C/s</i>	<i>Temperatur in °C</i>	<i>Haltezeit in s</i>
Trocknen	7	80	20
Trocknen	2	90	20
Trocknen	5	110	10
Pyrolyse	300	600	15
Atomisieren	1400	1200	3
Ausheizen	500	2450	4

Die bei der genannten Methodenoptimierung berechneten Nachweisgrenzen liegen für Cadmium bei 0,023 µg/L, allerdings bei einer Auswertung über Peakflächen. Trotzdem wurde ein Kalibrierbereich von 0,06 bis 0,40 µg/L als geeignet abgeschätzt.

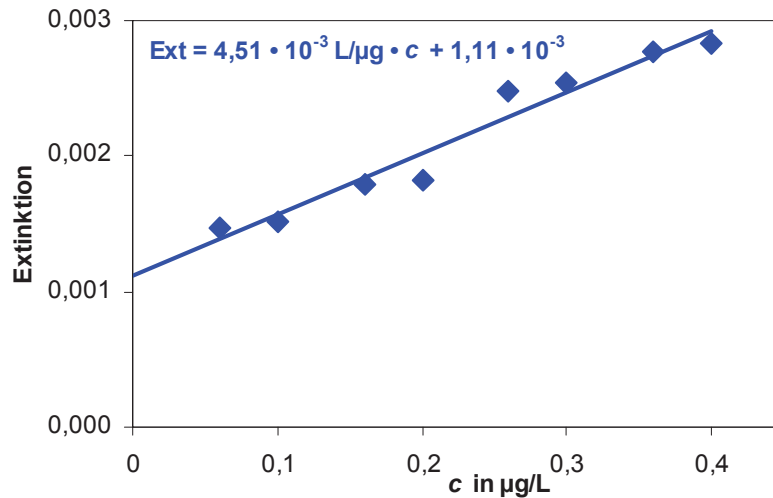
Der höchste Kalibrierstandard wurde aus einer Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-Standardlösung der Konzentration 1000 mg/L (Merck, Darmstadt) so hergestellt, dass zunächst auf 500 µg/L und anschließend auf 0,4 µg/L mittels doppelt destillierten Wassers verdünnt wurde. Die weiteren Konzentrationen der Kalibrierreihe wurden direkt im Graphitrohr vor der jeweiligen Messung durch Versetzen mit doppelt destilliertem Wasser erzeugt, wobei jeweils auch ein Pd-Mg-Modifizier hinzugefügt wurde.

Jeder der acht Kalibrierstandards und der Blindwert wurden dreifach gemessen. Die Messzeit betrug dabei 5,0 s in Schritten von 0,025 s. Der aufgenommene Wellenlängenbereich lag zwischen 228,68 und 228,92 nm mit einer Auflösung von 0,0012 nm. Die Spektrenmatrizen liegen somit in einer Größe von 200 x 200 Datenpunkten vor.

### 5.1.2 Auswertung als zwei- und dreidimensionale Spektren

Die Spitze des Cadmiumpeaks liegt in den Spektren ungefähr bei einer Wellenlänge von 228,8 nm (bei der auch die Auswertung der zweidimensionalen Spektren erfolgt) und einer Analysenzeit von 3,1 s. Da ein Vergleich von Signal-Rausch-Verhältnissen und die Berechnung der Nachweisgrenze direkt über  $R_{PP}$  nur bei einer Auswertung über Peakhöhen sinnvoll ist, nicht über Peakflächen oder -volumina, ist die Ermittlung der Signalgrößen zunächst einmal unabhängig davon, ob die Spektren zwei- oder dreidimensional betrachtet werden. Da der Kalibrierbereich in Nähe der Nachweisgrenze liegt, sind die Extinktionen sehr gering und liegen für alle Punkte unter 0,003. Trotzdem ist eine lineare Kalibrierung

möglich (Abb. 5.1). Dabei liegt die Steigung bei  $4,51 \cdot 10^{-3} \text{ L}/\mu\text{g}$ , der Ordinatenabschnitt bei  $1,11 \cdot 10^{-3}$ . Die Reststandardabweichung beträgt  $0,131 \cdot 10^{-3}$ .

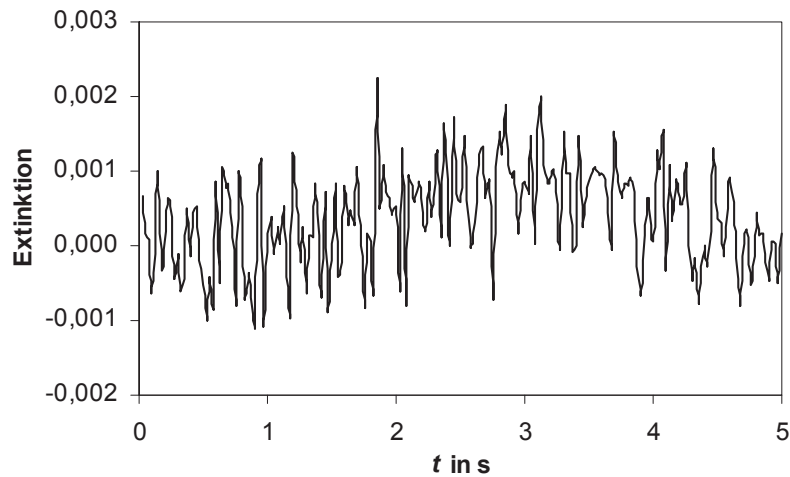


**Abb. 5.1** Kalibrierkurve für die Bestimmung von Cadmium mittels AAS

Für die Berechnung des  $R_{PP}$ -Wertes jedoch macht es einen Unterschied, ob nur das Rauschen um die Zeitachse betrachtet wird, oder um die Ebene, die durch Zeit- und Wellenlängenachse aufgespannt wird. Dabei werden schließlich alle vorhandenen Datenpunkte betrachtet, also im Fall zweidimensionaler Spektren 200, bei dreidimensionalen 40000. So ist es nicht verwunderlich, dass im ersten Fall das Peak-zu-Peak-Rauschen einen Wert von  $3,20 \cdot 10^{-3}$  aufweist im zweiten Fall jedoch mit  $2,98 \cdot 10^{-3}$  etwas kleiner ist. Der Unterschied von knapp 8 % ist jedoch vertretbar für die weitere Interpretation.

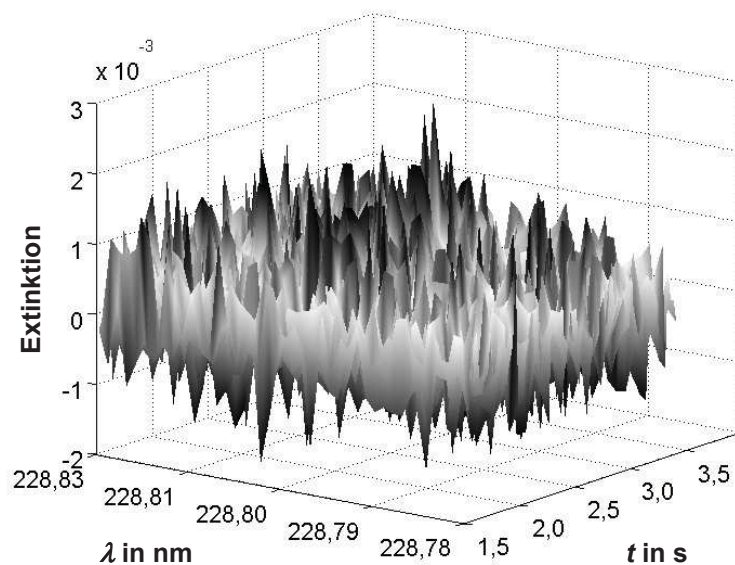
Die aus dem Rauschen berechneten Nachweisgrenzen unterscheiden sich folglich trotz gleicher Kalibrierkurve ebenfalls. Für die zweidimensionale Betrachtung liegt sie bei  $c_{NG} = 0,355 \mu\text{g/L}$ , für die dreidimensionale bei  $c_{NG} = 0,330 \mu\text{g/L}$ . Wenn man jedoch die standardmäßig eingesetzte indirekte Methode [48] zu Grunde legt, erhält man einen Wert von  $0,055 \mu\text{g/L}$ . Das macht einen erheblichen Unterschied, da im einen Fall nahezu die komplette Kalibrierreihe unterhalb der Nachweisgrenze läge, im anderen jedoch kein einziger Punkt. Die verschiedenen Betrachtungsweisen bei der Festlegung der Nachweisgrenze erkennt man auch, wenn man sich die Spektren ansieht (Abb. 5.2 und 5.3).





**Abb. 5.2** Cadmiumspektrum bei einer Konzentration von  $0,20 \mu\text{g/L}$  und einer Messwellenlänge von  $228,80 \text{ nm}$

Dabei sind die Extinktionen im Bereich von  $t = 3 \text{ s}$  zwar größer als die Rauschamplitude, wie sie am Beginn zwischen 0 und 1 s festzustellen ist (Abb. 5.2). Trotzdem ist kein eindeutiger Peak zu erkennen, obwohl die zugrunde liegende Cadmiumkonzentration von  $0,20 \mu\text{g/L}$  größer als die nach DIN 32645 berechnete Bestimmungsgrenze von  $0,153 \mu\text{g/L}$  ist. Somit wird deutlich, dass zwar rein rechnerisch Messungen im vorliegenden Konzentrationsbereich möglich sind, das Aussehen der Spektren für den Anwender aber mehr als unbefriedigend ist. Schließlich könnten im vorliegenden Fall nicht einmal die Peakgrenzen klar definiert werden, wenn man sich entschiede, über Peakflächen auszuwerten.



**Abb. 5.3** 3-D-Cadmiumspektrum bei einer Konzentration von  $0,20 \mu\text{g/L}$

Noch schwieriger wird es bei der Darstellung von dreidimensionalen Spektren (Abb. 5.3). Hier verdeckt das sich in alle Richtungen erstreckende Rauschen die Sicht auf den Peak in der Mitte. Vom Vorteil der HR-CS-AAS, die spektrale Umgebung einer Analysenlinie zu erkennen und interpretierbar zu machen, kann hier nicht mehr gesprochen werden. Das zeigt, wie wichtig gerade bei dieser Technik das Entrauschen der vorliegenden Signalkurven ist.

**Tab. 5.2** Signal-Rausch-Verhältnisse bei der Auswertung zwei- und dreidimensionaler Spektren

$c_{Cd}$ in $\mu\text{g/L}$	$SNR$ (2-D)	$SNR$ (3-D)
0,06	0,366	0,385
0,10	0,459	0,494
0,16	0,471	0,507
0,20	0,557	0,599
0,26	0,775	0,834
0,30	0,791	0,850
0,36	0,862	0,928
0,40	0,882	0,948

Wie bereits anhand der Grafiken gezeigt, sind die Signal-Rausch-Verhältnisse sehr niedrig (Tab. 5.2) und liegen nur zwischen 0,4 und 0,9. Dabei ist aus oben genannten Gründen wieder ein kleiner Unterschied zwischen der Auswertung von zwei- und dreidimensionalen Spektren zu sehen.

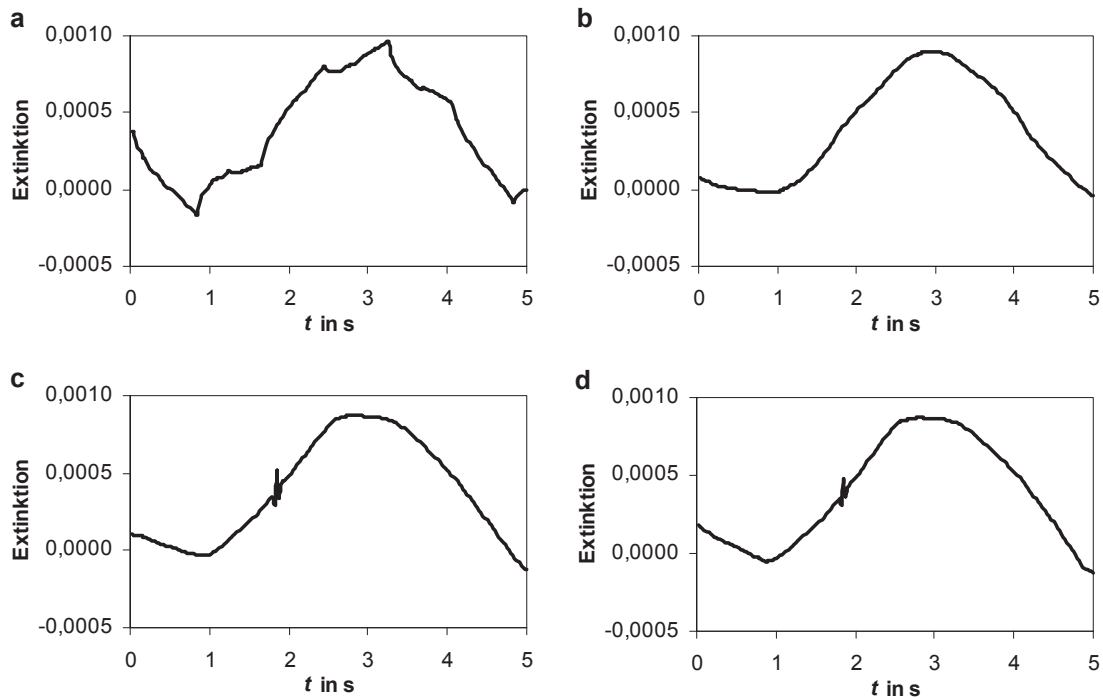
## 5.2 Entrauschen der zweidimensionalen Spektren

Möchte man die vorliegenden Cadmiumspektren in Form von zweidimensionalen Signalkurven entrauschen, kann das auf Basis der chromatographischen Daten (Kapitel 3) gewonnene Wissen genutzt werden.

So ist zwar anzunehmen, dass auch durch Faltung mit Gauß-Kurven oder Fourier-Transformation die vorliegenden Spektren entrauscht werden, dass dies mittels Wavelet-Transformation jedoch effektiver geschieht. Weiterhin ist zu vermuten, dass das Symlet4 gut geeignet ist, da die Basislinie bei den Spektren ebenso gleichmäßig verläuft wie bei den Chromatogrammen. Jedoch sind die AAS-Peaks breiter, eher so wie in der DPASV.

Deshalb kommen vergleichend verschiedene Wavelets aus den Daubechies-, Coiflet- und Symlet-Familien zu Einsatz.

Die Zerlegung des Originalsignals verläuft dabei bei allen Wavelets auf fünf Ebenen, und für die Rücktransformation werden in allen Fällen harte Schwellwerte genutzt.



**Abb. 5.4** Cadmiumspektrum bei einer Konzentration von  $0,20 \mu\text{g/L}$  nach dem Entrauschen mit a) Db2-Wavelet, b) Db4-Wavelet, c) Coiflet2 und d) Symlet4

Im Vergleich zu den Originalspektren (vgl. Abb. 5.2) sind nach dem Entrauschen deutlich Peaks zu erkennen (Abb. 5.4), wobei auf den veränderten Maßstab der Extinktions-Achse hingewiesen wird. Diese sind nun wesentlich einfacher auszuwerten, d.h. es kann vom Anwender leichter geprüft werden, wie die Basislinien angesetzt oder an welchem Punkt die Peakhöhen bestimmt werden. Somit liefert das Entrauschen einen wichtigen Beitrag zur möglichen Spektreninterpretation.

Die Unterschiede zwischen den eingesetzten Wavelets sind wenig ausgeprägt. Lediglich beim Entrauschen mittels des Db2-Wavelets fällt auf (Abb. 5.4a), dass die Peaks nach der Transformation starke Irregularitäten aufweisen, die der Form dieses Wavelets entsprechen. Somit ist das Bild eines „schönen Peaks“ etwas getrübt, doch die Auswertbarkeit leidet nicht. Bei Verwendung von Coiflet2 und Symlet4 erkennt man bei den für diesen Kalibrierpunkt entrauschten Spektren (Abb. 5.4c und d) an der linken Schulter kleine Arte-

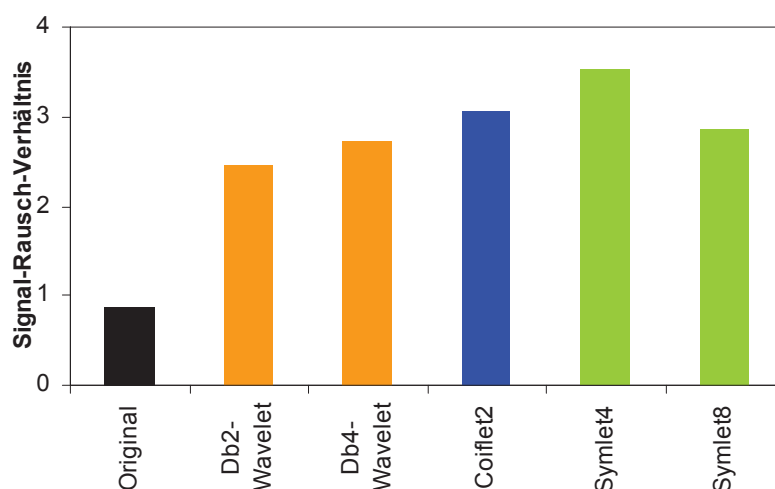
fakte von der Rücktransformation. Diese könnten aus Darstellungsgründen noch geglättet werden, stören an den Peakschultern aber kaum.

**Tab. 5.3** Peak-zu-Peak-Rauschen nach dem Entrauschen der zweidimensionalen Spektren und Verbesserungsfaktor gegenüber  $R_{PP} = 3,20 \cdot 10^{-3}$

<i>Methode</i>	$R_{PP}$	<i>Verbesserungsfaktor</i>
Db2-Wavelet	$0,809 \cdot 10^{-3}$	4,0
Db4-Wavelet	$0,678 \cdot 10^{-3}$	4,7
Coiflet2	$0,614 \cdot 10^{-3}$	5,2
Symlet4	$0,617 \cdot 10^{-3}$	5,2
Symlet8	$0,626 \cdot 10^{-3}$	5,1

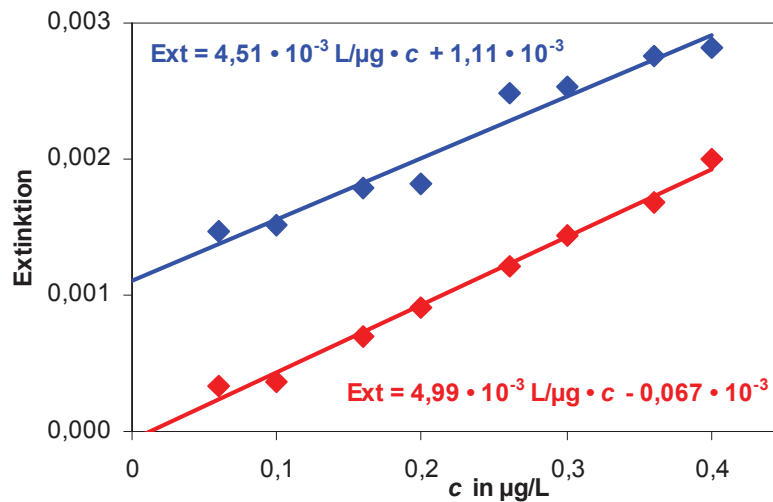
Das bereits optisch festgestellte verringerte Rauschen drückt sich auch analog in Zahlen aus (Tab. 5.3). Die Werte für  $R_{PP}$  liegen nur noch bei etwa  $0,6 \cdot 10^{-3}$  und sind somit gegenüber der Rauschamplitude der Originalspektren um Faktoren von rund 5,0 verbessert. Auch hier sind die Unterschiede zwischen den Wavelets gering,

Deutlicher werden diese beim Vergleich von Nachweisgrenzen und Signal-Rausch-Verhältnissen. Bei letzteren zeigt sich, dass Symlet4, ebenso wie beim Einsatz in der Chromatographie, die größte Verstärkung gegenüber den aus den Originaldaten berechneten SNR-Werten bewirkt. Weiterhin erkennt man eine Abstufung der Signal-Rausch-Verhältnisse vom höchsten Wert nach Entrauschen mittels Symlet4 über die Werte nach Einsatz von Coiflet2 und Symlet8 hin zu den Daubechies-Wavelets, bei denen die SNRs am wenigsten stark verbessert werden.



**Abb. 5.5** Signal-Rausch-Verhältnisse für  $c_{Cd} = 0,40 \mu\text{g/L}$  vor und nach dem Entrauschen mittels verschiedener Wavelets

Der Grund hierfür liegt wiederum nicht allein an den unterschiedlich erreichten  $R_{pp}$ -Werten, sondern auch am ungleichen Vermögen, beim Entrauschen Peakhöhen zu erhalten. Dies gelingt mittels Coiflet2 und der Symlets etwas besser als mit den Daubechies-Wavelets.



**Abb. 5.6** Kalibrierkurve für die Bestimmung von Cadmium mittels AAS vor (blau) und nach dem Entrauschen mittels Db2-Wavelet (rot)

In Zahlen ausgedrückt heißt das, dass insgesamt die Steigungen der Kalibrierfunktionen (Abb. 5.6) erhalten bleiben oder sogar etwas erhöht werden. Die nach dem Einsatz von Symlet4 berechnete ist dabei am größten. Das gute Entrauschungsvermögen wird auch über den Ordinatenabschnitt ausgedrückt: Dieser ist nicht mehr von null zu unterscheiden, wogegen er bei Auswertung der Originaldaten im Bereich des Peak-zu-Peak-Rauschens lag.

Somit können auch die Nachweisgrenzen deutlich vermindert werden (Tab. 5.4). Die Verbesserungsfaktoren zwischen 4,5 und 6 liegen dabei in dem Bereich, der auch für die Entrauschung von Chromatogrammen erzielt werden konnte. Dies, und ebenso, dass Symlet4 offensichtlich am besten geeignet ist, zweidimensionale Spektren zu entrauschen, zeigt wiederum, dass sich die Signalkurven dieser beiden analytischen Methoden ähneln.

**Tab. 5.4** Nachweisgrenzen für Cadmium nach dem Entrauschen und Verbesserungsfaktoren gegenüber  $c_{\text{NG}} = 0,355 \mu\text{g/L}$ 

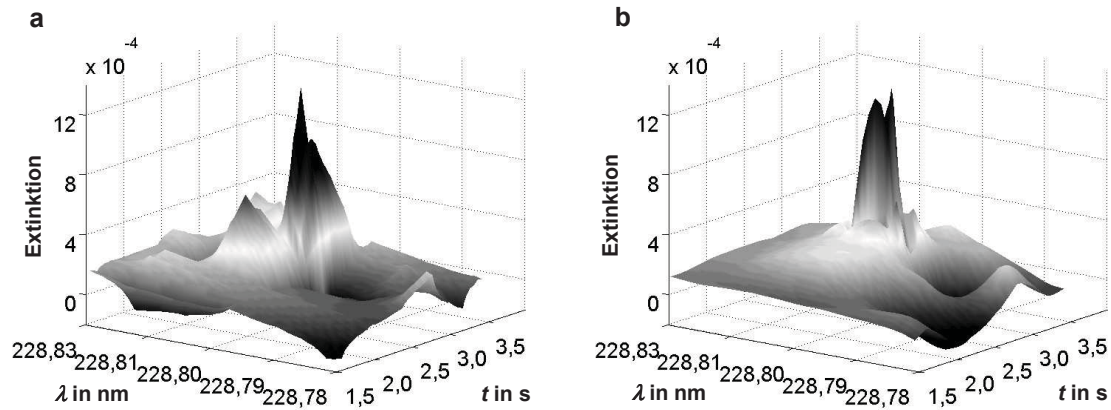
<i>Methode</i>	<i>NG in <math>\mu\text{g/L}</math></i>	<i>Verbesserungsfaktor</i>
Db2-Wavelet	0,081	4,4
Db4-Wavelet	0,077	4,6
Coiflet2	0,066	5,4
Symlet4	0,061	5,9
Symlet8	0,072	4,9

### 5.3 Entrauschen der dreidimensionalen Spektren

Interessant ist es nun zu sehen, ob dreidimensionale Spektren ebenso gut entrauscht werden können. Zur Ermöglichung eines direkten Vergleichs kommen dabei dieselben Wavelets zum Einsatz, nur eben angewendet in Form einer höherdimensionalen Transformation. Die Zerlegung auf fünf Ebenen und die Verwendung von harten Schwellwerten werden aus Analogiegründen ebenfalls beibehalten, wobei es aus Gründen der erschwerten Abbildung ohnehin schwierig ist, bei dreidimensionalen Spektren die Wahl der richtigen Schwellwerte abzuschätzen.

Unter Verwendung dieser Parameter wird auch das Rauschen der dreidimensionalen Spektren stark verringert (Abb. 5.7). Allerdings liegen die  $R_{\text{pp}}$ -Werte mit  $0,7 \cdot 10^{-3}$  bis  $1,3 \cdot 10^{-3}$  über denen, die beim Entrauschen der 2-D-Spektren erreicht werden konnten. Trotzdem werden auch hier Verbesserungsfaktoren zwischen 2,7 und 4,2 erzielt. Weiterhin sieht man noch deutlicher den Unterschied zwischen Daubechies-Wavelets und den stärker symmetrischen Symlets und Coiflet2. Letztere verringern das Rauschen stärker.

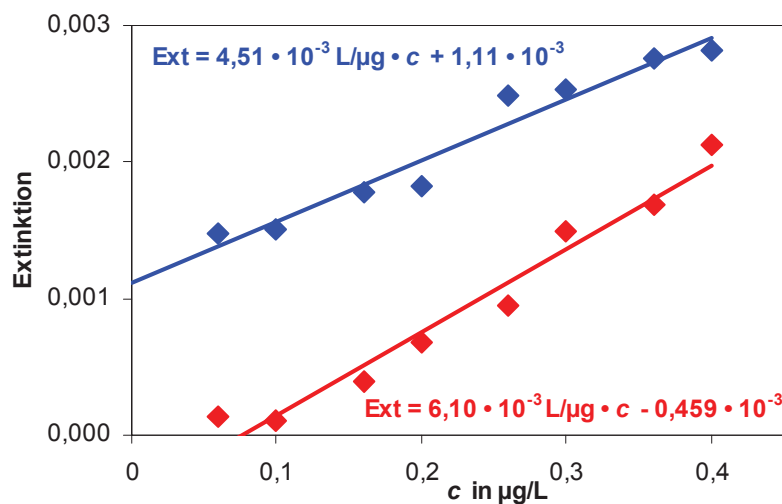
Zwischen diesen beiden Gruppen lassen sich auch entscheidende Gegensätze bei den Kalibrierfunktionen feststellen. Wie immer nach dem Entrauschen liegen die Ordinatenabschnitte bei weiter negativen Werten. Zusätzlich sinken bei Verwendung der Daubechies-Wavelets wie gewöhnlich die Steigungen, wobei diese immer noch im Bereich von  $a_1 = 4,51 \cdot 10^{-3} \text{ L}/\mu\text{g}$  der ursprünglichen Kalibrierfunktion liegen.



**Abb. 5.7** 3-D-Cadmiumspektren bei einer Konzentration von 0,20 µg/L, entrauscht mittels a) Db2-Wavelet und b) Symlet4

Dies gilt allerdings nicht für Coiflet2, Symlet4 und Symlet8. Interessanterweise ist dabei zu beobachten, dass die Empfindlichkeiten sogar ansteigen. Sie liegen mit  $6,31 \cdot 10^{-3} \text{ L/}\mu\text{g}$ ,  $7,51 \cdot 10^{-3} \text{ L/}\mu\text{g}$  bzw.  $6,10 \cdot 10^{-3} \text{ L/}\mu\text{g}$  (vgl. Abb. 5.8) signifikant höher als die aus den Originaldaten berechnete Steigung.

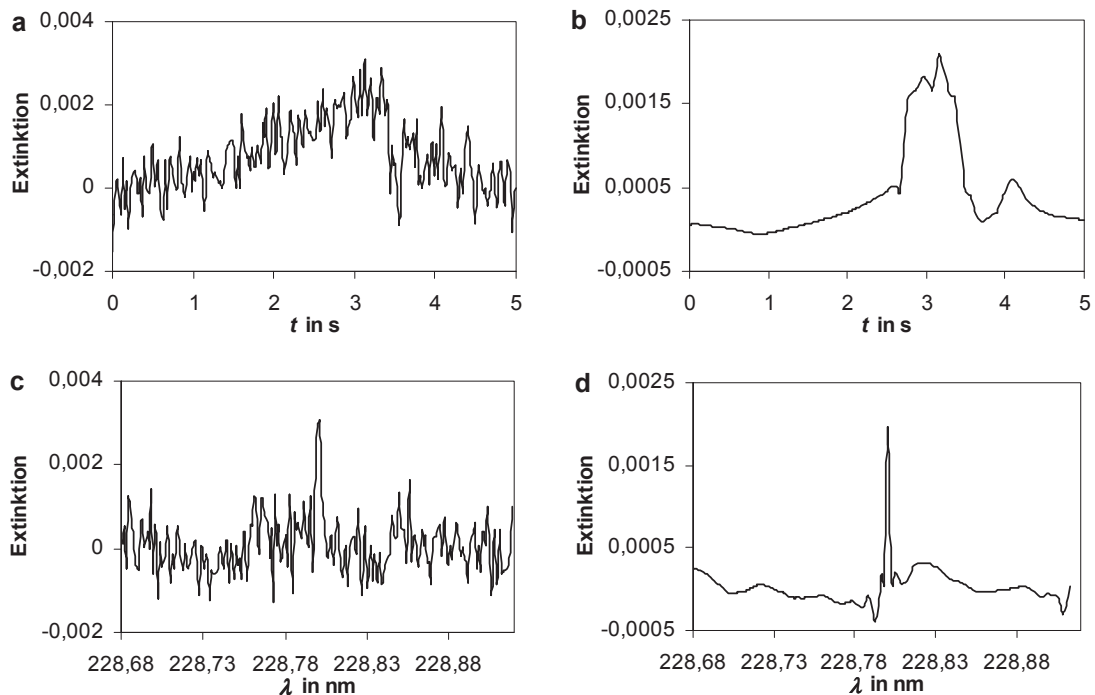
Dies ist darauf zurückzuführen, dass nicht, wie sonst, die Höhen der größeren Peaks stärker reduziert werden als die der kleineren, sondern umgekehrt. Die Höhe großer Peaks wird sogar noch verstärkt, ähnlich wie bei der Faltung mit Gauß-Kurven sehr kleiner Halbwertsbreite.



**Abb. 5.8** Kalibrierkurve für die Bestimmung von Cadmium mittels AAS vor (blau) und nach dem Entrauschen mittels Symlet8 (rot)

Erklären kann man sich dies mit dem Aussehen der Spektren in Wellenlängen-Richtung (Abb. 5.9c und d). Die Analytpeaks sind bei dieser Betrachtung sehr schmal, d.h. sie weisen in der Regel nur Breiten von wenigen Datenpunkten auf, da der Analyt Cadmium nur

Strahlung in einem sehr engen Wellenlängenbereich absorbieren kann. Somit wären die ebenfalls sehr schmalen Waveletfunktionen Coiflet2 und Symlet8 besonders gut zum Entrauschen geeignet, im Gegensatz zu den breiteren Daubechies-Wavelets. Die Transformation wird aber gleichzeitig entlang der Wellenlängen- *und* der Zeitachse durchgeführt. Somit müssen die Waveletfunktionen auch zugleich an die breiteren Zeitpeaks (Abb. 5.9a) und die schmalen Wellenlängenpeaks angepasst werden, wodurch es direkt an den Peakmaxima zu, in diesem Fall positiven, großen Artefakten kommt, die dann als vergrößerte Peaks auftreten (Abb. 5.9b).



**Abb. 5.9** Cadmiumspektrum bei einer Konzentration von 0,40  $\mu\text{g/L}$ , gezeigt zweidimensional a) und b) bei einer Wellenlänge von 228,80 nm und c) und d) bei einer Messzeit von 3,14 s, im Fall von b) und d) entrauscht mittels Symlet4

Durch diesen Effekt verringern sich die Nachweisgrenzen (Tab. 5.5) bei Verwendung von Coiflet2, Symlet4 und Symlet8 wesentlich stärker als beim Einsatz der Daubechies-Wavelets. Diese bewirken zwar auch eine Verbesserung um Faktor 2,1 bis 2,6. Wenn die dreidimensionalen Spektren jedoch mit Symlet4 transformiert werden, liegt der Faktor sogar bei 7,0.

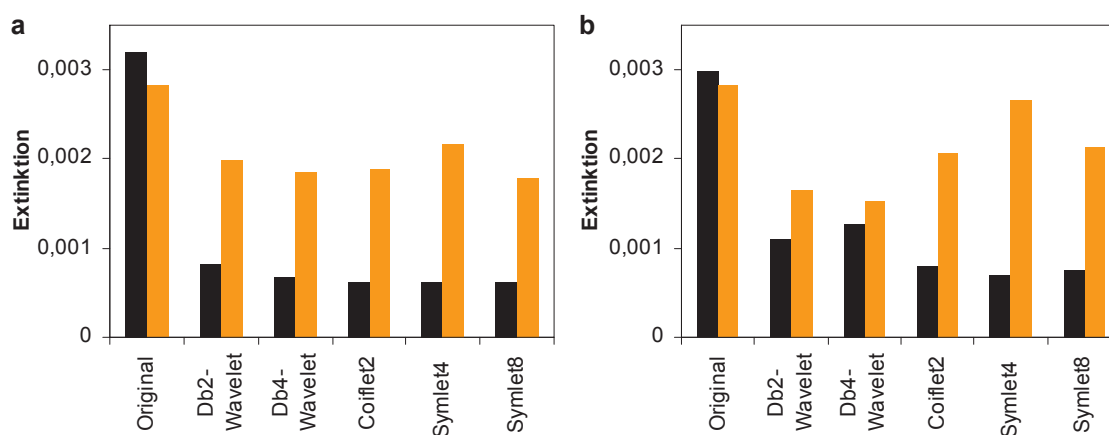


**Tab. 5.5** Nachweisgrenzen für Cadmium nach dem Entrauschen und Verbesserungsfaktoren gegenüber  $c_{\text{NG}} = 0,330 \mu\text{g/L}$ 

<i>Methode</i>	<i>NG in <math>\mu\text{g/L}</math></i>	<i>Verbesserungsfaktor</i>
Db2-Wavelet	0,126	2,6
Db4-Wavelet	0,154	2,1
Coiflet2	0,063	5,2
Symlet4	0,047	7,0
Symlet8	0,062	5,3

#### 5.4 Vergleich der Auswertung von zwei- und dreidimensionalen Spektren

Wie in den beiden vorangegangenen Kapiteln dargestellt, ist es mittels Wavelet-Transformation möglich, sowohl zwei- als auch dreidimensionale Spektren erfolgreich zu entrauschen. Dabei zeigen sich aber Unterschiede, auch hinsichtlich der verwendeten Waveletfunktionen.

**Abb. 5.10** Rauschamplitude (schwarz) und Peakhöhe (orange) bei einer Cadmiumkonzentration von  $0,40 \mu\text{g/L}$  vor und nach dem Entrauschen mittels Wavelet-Transformation, bei Auswertung von a) zweidimensionalen und b) dreidimensionalen Spektren

Werden die vorliegenden Spektren als zweidimensionale Signalkurven entrauscht, so sinkt  $R_{\text{PP}}$  gegenüber der Rauschamplitude des Originalspektrums, weitestgehend unabhängig vom verwendeten Wavelet (Abb. 5.10a). Ebenso bleiben die Peakhöhen weitgehend erhalten, sie werden nur etwas reduziert. Auch dies geschieht noch einigermaßen gleichmäßig, auch wenn sich dabei bereits zeigt, dass Symlet4 die ursprünglichen Peaks noch am besten zu erhalten vermag. Somit würde man sich bereits auf Grundlage der zweidimensionalen

Auswertung für Symlet4 entscheiden, was die für Chromatogramme getroffenen Schlussfolgerungen bestätigt.

Betrachtet man nun aber die Veränderung von Signalhöhe und Rauschen nach Anwendung der Wavelet-Transformation auf dreidimensionale Cadmiumspektren, so ergeben sich zwei sich ergänzende Effekte. Zum einen kann hierbei mit den Vertretern der Daubechies-Familie weniger gut entrauscht werden. Die danach berechneten  $R_{pp}$ -Werte liegen höher als bei Nutzung von Coiflet2, Symlet4 und Symlet8. Gleichzeitig werden bei den drei letztgenannten die Analytpeaks erheblich besser in ihrer Höhe erhalten, was vermutlich daran liegt, dass diese Peaks in Wellenlängen-Richtung sehr viel schmäler sind als in Zeit-Richtung und sich bei gleichzeitigem Entrauschen Synergieeffekte entwickeln.

Das Rauschen bei Coiflet2, Symlet4 und Symlet8 ist also niedriger und die Signale höher, was bedeutet dass, wie gewünscht, Signal-Rausch-Verhältnisse steigen und Nachweisgrenzen fallen, beides in größerem Ausmaß als für Daubechies-Wavelets zu beobachten.

**Tab. 5.6** Nachweisgrenzen für Cadmium nach dem Entrauschen von zwei- und dreidimensionalen Spektren mit jeweiligen Verbesserungsfaktoren

<i>Methode</i>	Zweidimensionale Auswertung		Dreidimensionale Auswertung	
	<i>NG in <math>\mu\text{g/L}</math></i>	<i>Verbesserungs- faktor</i>	<i>NG in <math>\mu\text{g/L}</math></i>	<i>Verbesserungs- faktor</i>
Db2-Wavelet	0,081	4,4	0,126	2,6
Db4-Wavelet	0,077	4,6	0,154	2,1
Coiflet2	0,066	5,4	0,063	5,2
Symlet4	0,061	5,9	0,047	7,0
Symlet8	0,072	4,9	0,062	5,3

Beim paarweisen Vergleich der Nachweisgrenzen (Tab. 5.6) zeigt sich für das Db2- und Db4-Wavelet, dass die NGs nach dem Entrauschen von dreidimensionalen Spektren höher liegen. Es gäbe somit keinen Vorteil dieser Spektren. Es ist allerdings zu betonen, dass unabhängig von der Dimension der Daten die Nachweisgrenzen gegenüber den Originalwerten sehr wohl verringert werden, um Faktoren um 2,4 bzw. 4,5.

Für Coiflet2, Symlet4 und Symlet8 ergeben sich hingegen nach dem Entrauschen der dreidimensionalen Spektren geringere Nachweisgrenzen als nach Entrauschen der zweidimensionalen. Besonders im Fall des Symlets4 verbessert sich diese auf 0,047  $\mu\text{g/L}$ , d.h. gegenüber dem ursprünglichen Wert um Faktor 7,0.

Somit kann geschlussfolgert werden, dass es sich bei Auswahl des richtigen Wavelets – für HR-CS-AA-Spektren wird das Symlet4 vorgeschlagen – schon hinsichtlich des Signal-Rausch-Verhältnisses und der Nachweisgrenze lohnt, zum einen dreidimensionale Spektren auszuwerten und diese zum anderen mittels Wavelt-Transformation zu entrauschen.

Erst danach werden die Analytpeaks optisch erkannt und können somit richtig ausgewertet werden. Weiterhin kann erst nach dem Entrauschen der Vorteil der Dreidimensionalität, nämlich die spektrale Umgebung des Analytpeaks sichtbar und damit interpretierbar zu machen, zur Geltung kommen, solange die Konzentrationen der Analyten noch nahe der Nachweisgrenze liegen.

## 6 Schlussfolgerungen und Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit ist, Messsignale aus dem Bereich der analytischen Chemie optimal zu entrauschen, um dadurch die Nachweisgrenzen herabzusetzen. Dazu wurden drei mathematische Methoden der Signalbehandlung eingesetzt: Faltung mit Gauß-Kurven, Fourier-Transformation und Wavelet-Transformation.

Als erste analytische Aufgabenstellung standen dabei Messungen von vier Arsenspezies mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie mit massenspektrometrischer Detektion zur Verfügung. Die Peaks der vier Spezies waren von unterschiedlicher Form. Der As(III)-Peak war sehr schmal und hoch, der As(V)-Peak im Gegensatz dazu eher niedrig und breit. Die Peaks der organischen Spezies DMA und AsB lagen zwischen den Extremen.

Um die erhaltenen Chromatogramme per Kreuzkorrelation (d.h. Faltung) mit Gauß-Kurven zu entrauschen, musste zunächst der Streuparameter  $\sigma$ , über den die Breite der Gauß-Kurven festgelegt wird, optimiert werden. In Voruntersuchungen konnte dabei die Literaturangabe bestätigt werden, die Halbwertsbreite der Gauß-Kurven solle 60 % der Halbwertsbreite von Analytpeaks betragen. Die Einstellung erfolgte für As(III) und As(V) individuell, für die beiden Spezies DMA und AsB wurde nur eine Gauß-Kurve mittlerer Breite zum Entrauschen genutzt.

Für die Anwendung der Fourier-Transformation wurden ebenfalls auf Basis von Voruntersuchungen die Grenzfrequenzen für As(III) zu 150, für DMA, As(V) und AsB zu 100 festgelegt. Die Wavelet-Transformation erfolgte mittels der Funktionen des Db2- und Db4-Wavelets, von Coiflet2 und Coiflet4 sowie von Symlet2, Symlet4 und Symlet8.

Alle diese Methoden der Signalbehandlung können erfolgreich zum Entrauschen eingesetzt werden. Während die Rauschamplitude in den Blindwerten der Originalchromatogramme noch bei  $90,3 \text{ s}^{-1}$  liegt, verringert sich der Wert auf 29,2 bis  $16,9 \text{ s}^{-1}$  je nach eingesetzter Methode. Dabei wird aber nur das Rauschen stark verringert, die Peakhöhen in den Chromatogrammen der Kalibrierreihe bleiben im Wesentlichen erhalten. Somit verbessern sich die Signal-Rausch-Verhältnisse, stellvertretend berechnet für eine Arsenkonzentration von  $2,4 \text{ µg/L}$ , für den breiten As(V)-Peak von 2,2 auf bis zu 9,6. Auch hier und bei der Verbesserung der Nachweisgrenzen nach dem Entrauschen gibt es Unterschiede zwischen den eingesetzten Signalbehandlungsmethoden.

Für alle vier Arsenspezies können mittels Faltung mit Gauß-Kurven Signal-Rausch-Verhältnisse am wenigsten gut erhöht und Nachweisgrenzen verringert werden. Nur ein wenig besser ist der Einsatz der Fourier-Transformation angezeigt. Damit wird deutlich, dass die Entwicklung der Wavelet-Transformation tatsächlich ein Fortschritt war. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Wavelet-Funktionen sind gering, aber feststellbar. Hier können zwei Gruppen postuliert werden: Das Db4-Wavelet, Coiflet2, Coiflet4 und Symlet8 ergeben etwas schlechtere Nachweisgrenzen als das Db2-Wavelet, Symlet2 und Symlet4.

Der Grund hierfür ist in der Form der Wavelets zu suchen. Die Funktionen der ersten Gruppe sind nahezu symmetrisch, wohingegen die Kurven von Db2-Wavelet und Symlet2 sehr asymmetrisch sind. Somit zeigt sich, dass beim Entrauschen von Chromatogrammen ein gewisses Maß an Asymmetrie in den Waveletfunktionen vorhanden sein muss, obwohl die Arsenpeaks auf den ersten Blick recht symmetrisch wirken. Zu asymmetrisch sollten die Funktionen jedoch auch nicht sein, da am besten zum Entrauschen das Symlet4 geeignet ist. Dessen Kurve ist hinsichtlich der Symmetrieeigenschaften zwischen denen der ersten Gruppe einerseits und von Db2-Wavelet und Symlet2 andererseits anzusiedeln.

Nach dem Einsatz von Symlet4 sind die Nachweisgrenzen der Arsenspezies im Mittel um den Faktor 5,8 verbessert.

Nicht alle chemischen Messsignale sind so gleichmäßig wie die untersuchten Chromatogramme. Deshalb wurden im weiteren Schritt mittels DPASV Voltammogramme von Cadmium aufgenommen. Bei diesen ist die Basislinie auf Grund des fließenden Grundstroms sehr strukturiert, das Rauschen ist nicht im Mittel über den gesamten Messbereich konstant. Weiterhin ändert sich der Grundstrom von Messung zu Messung.

Dies stellt eine Herausforderung an die Datenauswertung und an die angewendeten Methoden der Signalbehandlung dar. So zeigt sich, dass, obwohl der Parameter  $\sigma$  wiederum so gewählt war, dass das Verhältnis der Halbwertsbreiten bei 60 % lag, die Faltung mit Gauß-Kurven nicht sinnvoll angewendet werden konnte. Zwar verringert sich dadurch das Rauschen, auf Grund der unregelmäßigen Form der Cadmiumpeaks ist eine lineare Kalibrierung jedoch nicht möglich. Ebenso zeigt sich, dass Daubechies-Wavelets weitaus schlechter zum Entrauschen geeignet sind als Coiflets und Symlets, was ebenso auf die Peakform zurückzuführen ist. Allerdings könnte mit diesen durchaus entrauscht werden, genau wie dies rein qualitativ mittels Coiflet2, Coiflet4, Symlet2 und Symlet8, sowie mittels Fourier-Transformation unter Nutzung einer Grenzfrequenz von 20 möglich ist. Mit-

tels der letztgenannten Methoden verringert sich das Rauschen von 122 pA auf etwa 0,3 bis 1,0 pA. Auch scheint es kein grundsätzliches Problem beim Erhalt der Peakhöhen zu geben. Das Signal-Rausch-Verhältnis wird, nachdem es für den kleinsten Kalibrierstandard von 0,01 µg/L in den Originalvoltammogrammen bei nur 1,06 lag, auf Werte von 51,8 bis 278 erhöht. Diese deutliche Vergrößerung der Peakhöhen gegenüber dem Rauschen resultiert auch in stark verringerten Nachweisgrenzen. Dabei gibt es merkbare Unterschiede zwischen der Fourier-Transformation und dem stark asymmetrischen Symlet2 einerseits und den relativ symmetrischen Wavelets Coiflet2, Coiflet4 und Symlet8 andererseits. Die Auswahl der optimalen Wavelets erfolgt somit nach anderen Kriterien als bei den Chromatogrammen, da im Fall der Voltammogramme eine stärkere Symmetrie bevorzugt wird. Die niedrigste Nachweisgrenze von 0,05 ng/L ergibt sich nach Entrauschen mittels Coiflet2, was einer Verbesserung um Faktor 322 entspricht.

Somit scheinen die Probleme mit der Grundlinie in den Voltammogrammen den Einsatz der Wavelet-Transformation nicht zu behindern, sondern das Entrauschen sogar noch zu begünstigen. Allerdings liegen die höheren Verbesserungsfaktoren im Vergleich zur Chromatographie daran, dass zum einen die Rauschamplitude in der Voltammetrie höher ist, und somit mehr Rauschen entfernt werden kann. Zum anderen ist die Frequenz des Rauschens höher, was ebenfalls den Einsatz der Methoden der Signalbehandlung begünstigt.

Als letztes wurde das Entrauschungsvermögen der Wavelet-Transformation in der Atomabsorptionsspektrometrie getestet. Bei dieser Analysenmethode stehen sowohl herkömmliche zweidimensionale als auch dreidimensionale Spektren zur Verfügung, wobei die Abbildung von drei Dimensionen neue Auswerteverfahren ermöglicht.

Hier zeigt sich, dass durch die Db2- und Db4-Wavelets, Coiflet2, Symlet4 und Symlet8 die Spektren sowohl bei zwei- als auch bei dreidimensionaler Betrachtungsweise entrauscht werden. Die Signal-Rausch-Verhältnisse, die bei Auswertung der Originalspektren auch für den höchsten Kalibrierstandard von 0,4 µg/L kleiner als 1 waren, liegen nach dem Entrauschen bei bis zu 3,8. Somit sind auch die Nachweisgrenzen verringert.

Beim Vergleich der einzelnen Waveletfunktionen ergibt sich für die Spektren jedoch ein differenziertes Bild. Während beim Entrauschen der zweidimensionalen Spektren die Unterschiede zwischen den Waveletfunktionen ähnlich gering sind wie bei den Chromatogrammen, sind diese beim Entrauschen der dreidimensionalen Spektren deutlich ausgeprägt. Bei diesen kann mittels Daubechies-Wavelets weit weniger gut entrauscht

werden als mit Coiflet2 und den beiden Symlets. Hier kann als Grund die besondere Form der Cadmiumpeaks angegeben werden. Entlang der Zeitachse sind diese eher breit, entlang der Wellenlängenachse jedoch sehr schmal. Dies können Daubechies-Wavelets weniger gut nachbilden.

Am besten zum Entrauschen geeignet ist sowohl bei zwei- als auch bei dreidimensionaler Betrachtung Symlet4, was in Übereinstimmung mit den Schlussfolgerungen bei der Auswertung der Chromatogramme ist. Durch Symlet4 werden die Nachweisgrenzen um den Faktor 5,9 (2-D) bzw. 7,0 (3-D) verbessert.

Dabei zeigt sich, dass dreidimensionale Spektren besser entrauscht werden können. Das stellt noch einmal einen zusätzlichen Vorteil dieser Analysenmethode dar.

Aus den vorliegenden Untersuchungen ergibt sich, dass der Einsatz jeder Methode der Signalbehandlung sinnvoll ist, wenn Messsignale entrauscht werden sollen. Dabei ist jedoch durchweg die neueste Methode, die Wavelet-Transformation, am besten geeignet, und sollte somit angewendet werden.

Unter den zur Verfügung stehenden Waveletfunktionen ist bei regelmäßiger und konstanter Basislinie Symlet4 vorzuziehen, wobei auf Grund der geringen Unterschiede der Einsatz jeden Wavelets besser ist, als gar nicht zu entrauschen. Bei besonders stark strukturiertem Untergrund kann Coiflet2 vorgezogen werden.

Durch das Entrauschen werden Signal-Rausch-Verhältnisse deutlich erhöht und Nachweisgrenzen noch weiter gesenkt. Außerdem ist die Auswertung von Messsignalen nach dem Entrauschen erst möglich, da Peaks im Rauschen optisch nicht erkannt werden, und Basislinien zur Peakhöhen- oder -flächenberechnung erst nach Entfernen des Rauschens sinnvoll ermittelt werden können. Besonders bei Auswertung von dreidimensionalen Spektren ist ein Entrauschen sinnvoll und notwendig, da sonst die Vorteile der Methode – die spektrale Umgebung und somit Störeinflüsse sichtbar zu machen – beim Vorliegen kleiner Konzentrationen im Bereich der Nachweisgrenze nicht zum Tragen kämen.



---

**Literaturverzeichnis**

- [1] Vohr, H.-W.: Toxikologie, Band 1, Wiley-VCH, Weinheim, **2010**
- [2] Hieftje, G.M.: Signal-to-noise enhancement through instrumental techniques I, *Analytical Chemistry*, 44, 81A-88A, **1972**
- [3] Hieftje, G.M.: Signal-to-noise enhancement through instrumental techniques II, *Analytical Chemistry*, 44, 69A-78A, **1972**
- [4] Hieftje, G.M., Bystroff R.I., Lim, R.: Application of correlation analysis for signal-to-noise enhancement in flame spectrometry, *Analytical Chemistry*, 45, 253-258, **1973**
- [5] Betty, K.R., Horlick, G.: Autocorrelation analysis of noisy periodic signals utilizing a serial analog memory, *Analytical Chemistry*, 48, 1899-1904, **1976**
- [6] Horlick, G.: Detection of spectral information utilizing cross-correlation techniques, *Analytical Chemistry*, 45, 319-324, **1973**
- [7] Fleming, B.D.: DC and AC voltammetry of a free-base porphyrin adsorbed onto basal-plane graphite under acidic conditions: An example of a close to ideal reversible two-electron surface-confined redox process at sub-monolayer coverages, *Electrochimica Acta*, 54, 2713-2719, **2009**
- [8] Schiewe, J.: A unified approach to trace analysis and evaluation of electrode kinetics with fast Fourier transform electrochemical instrumentation, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 451, 129-138, **1998**
- [9] Gavaghan, D.J.: Numerical simulation of the effects of experimental error on higher harmonic components of Fourier transformed AC voltammograms, *Electroanalysis*, 18, 333-344, **2006**
- [10] Lee, Ch.-Y.: Evaluation of levels of defect sites present in highly ordered pyrolytic graphite electrodes using capacitive and faradaic current components derived simultaneously from large-amplitude Fourier transformed AC voltammetric experiments, *Analytical Chemistry*, 81, 584-594, **2009**
- [11] O'Mullane, A.P.: Higher harmonic large-amplitude Fourier transformed alternating current voltammetry: analytical attributes derived from studies of the oxidation of ferrocenemethanol and uric acid at a glassy carbon electrode, *Analytical Chemistry*, 80, 4614-4626, **2008**
- [12] Daubechies, I.: Ten lectures on wavelets, Society for Industrial and Applied Mathematics, **1992**
- [13] Pan, G.W.: Wavelet in electromagnetics and device modeling, John Wiley & Sons, Hoboken (USA), **2003**
- [14] Niemöller, A.: Die Wavelet-Analyse als chemometrisches Werkzeug – Analytische Anwendungen in der NIR-Spektrometrie, Dissertation, Duisburg, **1999**
- [15] George, T.P., Thomas, T.: Discrete wavelet transform de-noising in eukaryotic gene splicing, *BMC Bioinformatics*, 11, 50, **2010**
- [16] Chen, D., Chen, Z., Grant, E.: Adaptive wavelet transform suppresses background and noise for quantitative analysis by Raman spectrometry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 400, 625-634, **2011**
- [17] Walczak, B., Massart, D.L.: Noise suppression and signal compression using the wavelet packet transform, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 36, 81-94, **1997**
- [18] Alsberg, B.K.: An introduction to wavelet transform for chemometricians – A time-frequency approach, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 37, 215-239, **1997**



- 
- [19] Foca, G., Ferrari, C., Sinelli, N., Mariotti, M., Lucisano, M., Caramanico, R., Ulrici, A.: Minimisation of instrumental noise in the acquisition of FT-NIR spectra of bread wheat using experimental design and signal processing techniques, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 399, 1965-1973, **2011**
- [20] Foca, G., Cocchi, M., Li Vigni, M., Caramanico, R., Corbellini, M., Ulrici, A.: Different feature selection strategies in the wavelet domain applied to NIR-based quality classification models of bread wheat flours, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 99, 91-100, **2009**
- [21] Depczynski, U., Jetter, K., Molt, K., Niemöller, A.: The fast wavelet transform on compact intervals as a tool in chemometrics – II. Boundary effects, denoising and compression, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 49, 151-161, **1999**
- [22] Brauer, D.: Herabsetzung der Nachweisgrenze in der Elektroanalytik durch Anwendung der Wavelet-Transformation, Diplomarbeit, Jena, **2001**
- [23] Jakubowska, M., Kubiak, W.W.: Separation of overlapped voltammetric peaks with dedicated wavelet, in: Zuba, D., Parczewski, A. (ed) *Chemometrics Methods and Applications*, Institute of Forensic Research Publishers, Kraków, 401-406, **2006**
- [24] Boudreau, P.A.: Quantitative resolution of overlapped peaks in programmed potential-step voltammetry, *Analytical Chemistry*, 51, 811-817, **1979**
- [25] Nie, L.: Continuous wavelet transform and its application to resolving and quantifying the overlapped voltammetric peaks, *Analytica Chimica Acta*, 450, 185-192, **2001**
- [26] Gutknecht, W.F.: Numerical deconvolution of overlapping stationary electrode polarographic curves with an on-line digital computer, *Analytical Chemistry*, 42, 906-917, **1970**
- [27] Pižeta, I.: Detection and resolution enhancement of two close electrochemical processes, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 296, 395-404, **1990**
- [28] Cappadona, S.: Wavelet-based method for noise characterization and rejection in high-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry, *Analytical Chemistry*, 80, 4960-4968, **2008**
- [29] Danzer, K., Hobert, H., Fischbacher, C., Jagemann, K.-U.: *Chemometrik*, Springer, Berlin, **2001**
- [30] Kaiser, H.: Zur Definition der Nachweisgrenze, der Garantiegrenze und der dabei benutzten Begriffe, *Zeitschrift für Analytische Chemie*, 216, 80-94, **1966**
- [31] Doerffel, K., Wundrack, A.: *Korrelationsfunktionen in der Analytik*, Analytiker-Taschenbuch Band 6, Akademie-Verlag, Berlin, **1986**
- [32] Binnering, U.: Vergleich der Empfindlichkeit von Fluoreszenz-Spektralphotometern, *Labo – Magazin für Labortechnik und Life Science*, 11.12.2009, <http://www.labo.de/spektroskopie/Spektroskopie---Fachbeitrag---Vergleich-der--Empfindlichkeit.htm>, aufgerufen am 03.06.2011
- [33] John, P.A.St.: A statistical method for evaluation of limiting detectable sample concentrations, *Analytical Chemistry*, 39, 1495-1497, **1967**
- [34] Sachs, L.: *Angewandte Statistik*, Springer, Berlin, **1992**
- [35] Otto, M.: *Chemometrie*, Wiley-VCH, **1997**
- [36] Ehrlich, G., Danzer, K.: *Nachweisvermögen von Analysenverfahren*, Springer, Berlin, **2006**
- [37] Kaiser, H.: Zum Problem der Nachweisgrenze, *Zeitschrift für Analytische Chemie*, 209, 1-18, **1965**
- [38] Skoog, D.A., Leary, J.J.: *Instrumentelle Analytik*, Springer, Berlin, **2010**
- [39] Otto, M.: *Analytische Chemie*, Wiley-VCH, Weinheim, **2000**
- [40] Sharaf, M.A., Ilman, D.A., Kowalski, B.R.: *Chemometrics*, John Wiley & Sons, New York (USA), **1986**

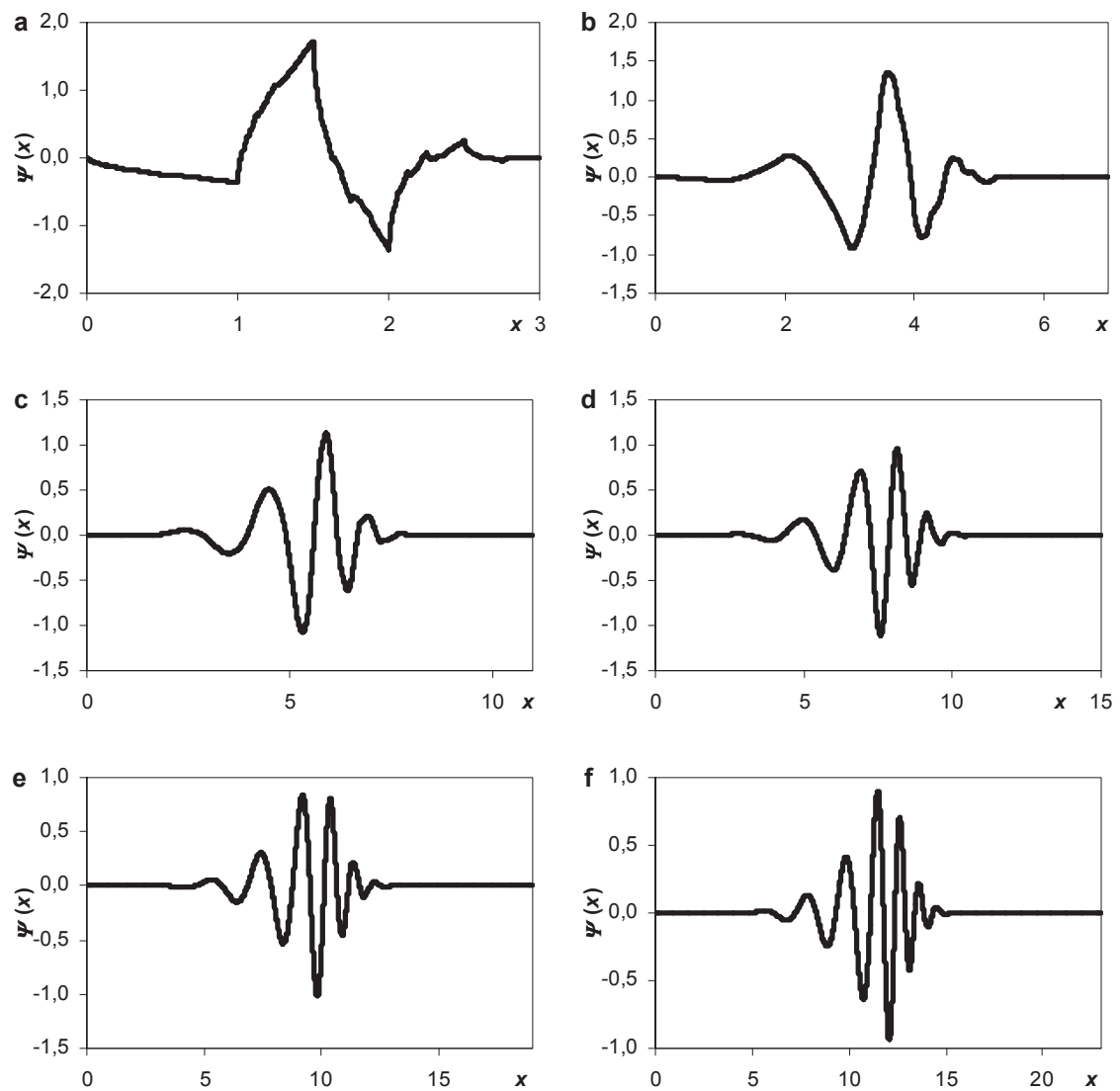
- 
- [41] Boumans, P.W.J.M.: Signal-to-background, signal-to-noise, and signal-to-noise – an appraisal of a few detection limits reported in inductively coupled plasma emission, *Spectrochimica Acta B*, 45, 799-813, **1990**
- [42] Geiß, S., Einax, J.W.: Comparison of detection limits in environmental analysis – is it possible?, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 370, 673-678, **2001**
- [43] International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM), JCGM 200:2008, Bureau International de Poids et Mesures, **2008**
- [44] Ehrlich, G.: Zur objektiven Bewertung des Nachweisvermögens in der Emissionsspektrographie, *Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie*, 225, 90-97, **1967**
- [45] DIN 38402-1, Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung – Allgemeine Angaben (Gruppe A) – Teil 1: Angabe von Analyseergebnissen (A1), Beuth Verlag, Berlin, Entwurf **2009**
- [46] Doerffel, K.: Statistik in der analytischen Chemie, Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig, **1990**
- [47] Boumans, P.W.J.M.: Measuring detection limits in inductively coupled plasma emission spectrometry using the “SBR-RSDB approach” – I. A tutorial discussion of the theory, *Spectrochimica Acta B*, 46, 431-445, **1991**
- [48] DIN 32645, Chemische Analytik – Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen, Beuth Verlag, Berlin, **2008**
- [49] Gottwald, W.: Statistik für Anwender, Wiley-VCH, Weinheim, **2000**
- [50] Funk, W., Dammann, V., Donnevert, G.: Qualitätssicherung in der Analytischen Chemie, VCH, Weinheim, **1992**
- [51] Leiterer, M.: Validierung von Untersuchungsmethoden in der analytischen Praxis, Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft, Jena, **2008**
- [52] Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed, SANCO/2007/3131, **2007**
- [53] Liteanu, C.: Über die Definition der Nachweisgrenze, *Microchimica Acta*, 61, 745-757, **1973**
- [54] Dolan, J.W.: Enhancing signal-to-noise, *LC-GC North America*, 28, 212-216, **2010**
- [55] Camman, K.: Instrumentelle Analytische Chemie, Spektrum Akademischer Verlag, Berlin, **2001**
- [56] Aced, G., Möckel, H.: Liquidchromatographie – apparative, theoretische und methodische Grundlagen der HPLC, VCH, Weinheim, **1991**
- [57] Georg Thieme Verlag KG: Römp online, Stichwort „HPLC“, <http://www.roempp.com/prod/>, aufgerufen am 24.05.2011
- [58] Browner, R.F., Born, A.W.: Sample introduction techniques for atomic spectroscopy, *Analytical Chemistry*, 56, 875A-888A, **1984**
- [59] Thomas, R.: A beginner's guide to ICP-MS – Part III: The plasma source, *Spectroscopy* 16, 26-30, **2001**
- [60] Schwedt, G., Vogt, C.: Analytische Trennmethode, Wiley-VCH, Weinheim, **2010**
- [61] Georg Thieme Verlag KG: Römp online, Stichwort „Chromatogramm“, <http://www.roempp.com/prod/>, aufgerufen am 24.05.2011
- [62] Henze, G.: Polarographie und Voltammetrie, Springer-Verlag, Berlin, **2001**
- [63] Henze, G.: Einführung in die Polarographie und Voltammetrie, Metrohm AG, **o.J.**
- [64] Prikler, S.: Vergleich chemometrischer und chemischer Verfahren zur Signalbehandlung bei elektrochemischen Mehrkomponentenanalysen, Diplomarbeit, Jena, **2007**
- [65] Zorn, E.-C.: Methoden der spurenanalytischen Bestimmung von Estrogenen im Abwasser, Dissertation, Berlin, **2003**
- [66] Henze, G., Neeb, R.: Elektrochemische Analytik, Springer-Verlag, Berlin, **1986**

- [67] Dittrich, K.: *Flammenlose Atomabsorptionsspektrometrie*, Analytiker-Taschenbuch Band 8, Akademie-Verlag, Berlin, **1989**
- [68] Limburg, T., Gleisner, H., Einax, J.W.: Von der AAS zur MAS – Analytik von Nichtmetallen, *GIT Labor-Fachzeitschrift*, 54, 736-739, **2010**
- [69] Gleisner, H., Einax, J.W., Morés, S., Welz, B., Carasek, E.: A fast and accurate method for the determination of total and soluble fluorine in toothpaste using high-resolution graphite furnace molecular absorption spectrometry and its comparison with established techniques, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 54, 1040-1046, **2011**
- [70] Welz, B., Becker-Ross, H., Florek, S., Heitmann, U.: *High-resolution continuum source AAS*, Wiley-VCH, Weinheim, **2005**
- [71] Atkins, P.W.: *Physikalische Chemie*, Wiley-VCH, Weinheim, **2006**
- [72] Harris, D.C.: *Lehrbuch der Quantitativen Analyse*, Vieweg, Braunschweig, **1997**
- [73] Analytik Jena AG: *Grundlagen – Instrumentation und Techniken der Atomabsorptionsspektrometrie*, [http://www.msscien.com/aj/Fund\\_AAS/web/images/fundamentals\\_de.pdf](http://www.msscien.com/aj/Fund_AAS/web/images/fundamentals_de.pdf), aufgerufen am 21.05.2011
- [74] Harnly, J.M., Smith, C.M.M., Wichems, D.M., Ivaldo, J.C., Lundberg, P.L., Radziuk, B.: Use of a segmented array charge coupled device detector for continuum source atomic absorption spectrometry with graphite furnace atomization, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 12, 617-627, **1997**
- [75] Resano, M., García-Ruiz, E.: High-resolution continuum source graphite furnace absorption spectrometry: Is it as good as it sounds? A critical review, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 399, 323-330, **2011**
- [76] Heitmann, U., Welz, B., Borges, D.L.G., Lepri, F.G.: Feasibility of peak volume, side pixel and multiple peak registration in high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B*, 62, 1222-1230, **2007**
- [77] Einax, J.W., Zwanziger, H.W., Geiß, S.: *Chemometrics in environmental analysis*, VHC, Weinheim, **1997**
- [78] Strampp, W., Vorozhtsov, E.V.: *Mathematische Methoden der Signalverarbeitung*, Oldenbourg, München, **2004**
- [79] Lam, R.B., Sparks, D.T., Isenhour, T.L.: Cross-correlation signal/noise enhancement with applications to quantitative gas chromatography/Fourier transform infrared spectrometry, *Analytical Chemistry*, 54, 1927-1931, **1982**
- [80] Vandeginste, B.G.M., Massart, D.L., Buydens, L.M.C., De Jong, S., Lewi, P.J., Smeyers-Verbeke, J.: *Handbook of chemometrics and qualimetrics Part B*, Elsevier, Amsterdam, **1998**
- [81] Fearn, T.: Data compression: FT or wavelet, *Spectroscopy Europe*, 6, 24-28, **1999**
- [82] Hubbard, B.B.: *Wavelets – die Mathematik der kleinen Wellen*, Birkhauser, Basel, **1997**
- [83] Zachmann, H.G.: *Mathematik für Chemiker*, VCH, Weinheim, **1990**
- [84] Papula, L.: *Mathematik für Ingenieure und Naturwissenschaftler Band 2*, Vieweg, Braunschweig, **1994**
- [85] Misiti, M., Misiti, Y., Oppenheim, G., Poggi, J.-M.: *Wavelet toolbox user's guide*, The MathWorks Inc., München, **1997**
- [86] Depczynski, U.: *Konstruktion von waveletartigen Zerlegungen auf kompakten Intervallen mit Hilfe der Eigenlösungen Sturm-Liouvillescher Randwertprobleme*, Dissertation, Duisburg, **1995**
- [87] Depczynski, U., Jetter, K., Molt, K., Niemöller, A.: The fast wavelet transform on compact intervals as a tool in chemometrics – I. Mathematical background, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 39, 19-27, **1997**

- 
- [88] Alsberg, B.K., Woodward, A.M., Kell, D.B.: An introduction to wavelet transforms for chemometricians: A time-frequency approach, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 37, 215-239, **1997**
- [89] Alsberg, B.K., Woodward, A.M., Winson, M.K., Rowland, J.J., Kell, D.B.: Variable selection in wavelet regression models, *Analytica Chimica Acta*, 368, 29-44, **1998**
- [90] Bergh, J., Ekstedt, F., Lindberg, M.: Wavelets mit Anwendungen in Signal- und Bildverarbeitung, Springer, Berlin, **2007**
- [91] Pick, D.: Anwendung der Dynamischen Reaktionszelle (DRC) zur Verminderung von Molekulationeninterferenzen bei der Analyse von biologischen Proben mit der Quadrupol-ICP-MS, Diplomarbeit, Jena, **2008**
- [92] Pick, D., Leiterer, M., Einax, J.W.: Speciation of arsenic compounds and their distribution in different animal feedstuff using HPLC-ICP-MS, *European Symposium on Atomic Spectrometry (ESAS)*, Breslau, Polen, 05.-08.09. **2010**
- [93] Gong, Z., Lu, X., Ma, M., Watt, C., Le, X.C.: Arsenic speciation analysis, *Talanta*, 58, 77-96, **2002**
- [94] Leermakers, M., Baeyens, W., De Gieter, M., Smedts, B., Meert, C., De Bisschop, H.C., Morabito, R., Quevauviller, P.: Toxic arsenic compounds in environmental samples: Speciation and validation, *Trends in Analytical Chemistry*, 25, 1-10, **2006**
- [95] Pick, D.: Persönliche Mitteilung, 26.02. **2010**
- [96] Mittermayr, C.R., Nikolov, S.G., Hutter, H., Grasserbauer, M.: Wavelet denoising of Gaussian peaks: a comparative study, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 34, 187-202, **1996**
- [97] Kessler, W.: Multivariate Datenanalyse, Wiley-VCH, Weinheim, **2007**
- [98] Schwedt, G.: Analytische Chemie, Wiley-VCH, Weinheim, **2008**
- [99] Nürnberg, H.W.: Applications of polarography and voltammetry to marine and aquatic chemistry, *Zeitschrift für Analytische Chemie*, 282, 357-367, **1967**
- [100] Heise S. et al.: Studie zur Bewertung von Risiken durch feststoffgebundene Schadstoffe im Elbeinzugsgebiet, im Auftrag der Hamburg Port Authority und cofinanziert durch die Flussgebietsgemeinschaft Elbe, Hamburg, 349, **2008**
- [101] Prikler, S., Baborowski, M., Einax, J.W.: Anwendung der Inversvoltammetrie zur Bestimmung von Cadmium in der Elbe, Jahrestagung der Wasserchemischen Gesellschaft, Stralsund, 18.-20.05. **2009**
- [102] DIN 38402 Teil 51, Allgemeine Angaben (Gruppe A), Beuth Verlag, Berlin, **1986**
- [103] Welz, B., Lepri, F.G., Araujo, R.G.O., Ferreira, S.L.C., Huang, M.-D., Okrus, M., Becker-Ross, H.: Determination of phosphorus, sulfur and the halogens using high-temperature molecular absorption spectrometry in flames and furnaces – A review, *Analytica Chimica Acta*, 647, 137-148, **2009**
- [104] Limburg, T.: Charakterisierung der analytischen Leistungsfähigkeit verschiedener Untergrundkompensationsmethoden in der AAS, Diplomarbeit, Jena, **2008**

## Anhang 1

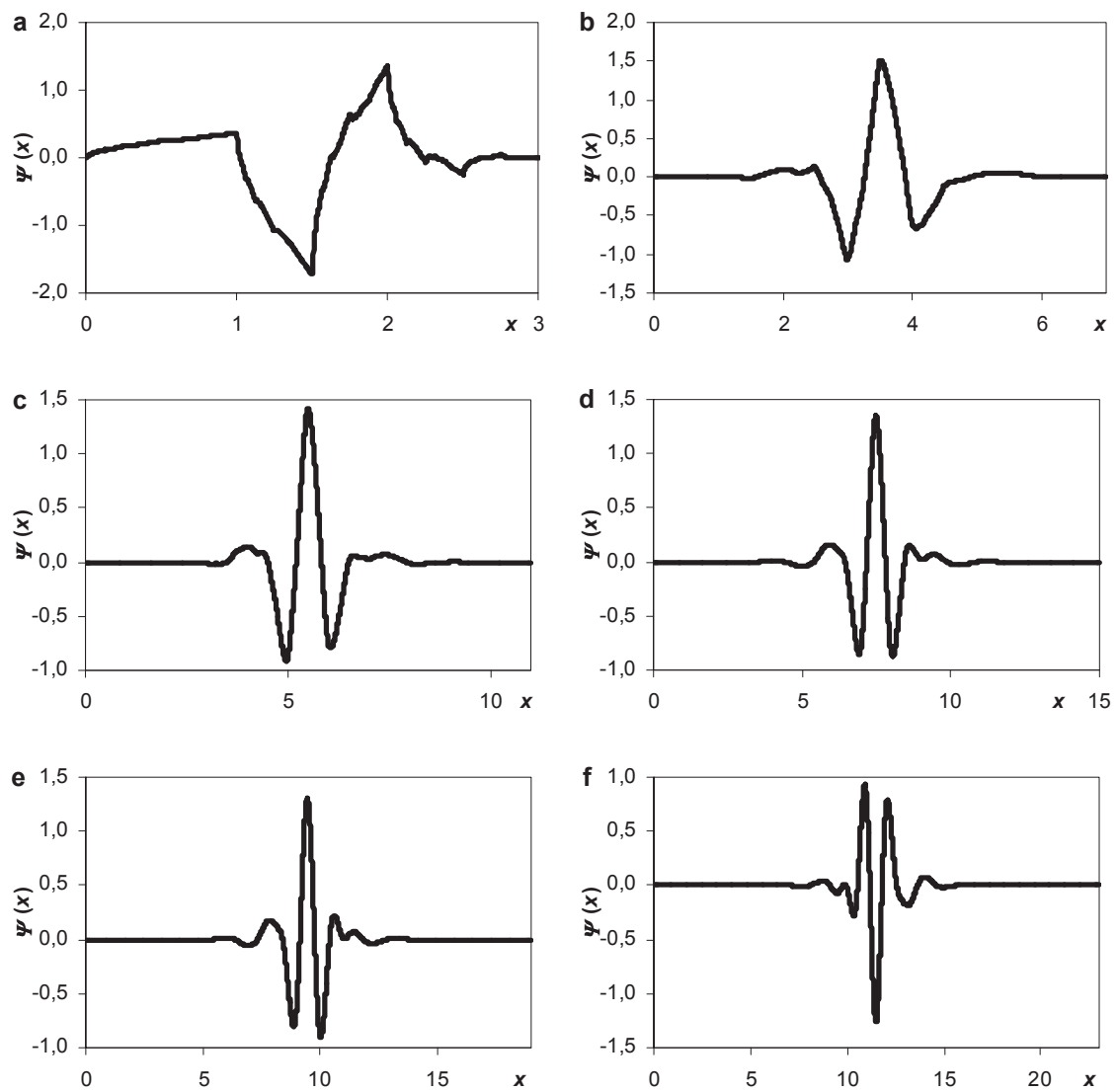
### Darstellung von Waveletfunktionen aus der Daubechies-Familie



**Abb. A.1** a) Db2-, b) Db4-, c) Db6-, d) Db8-, e) Db10-, f) Db12-Wavelet

## Anhang 2

### Darstellung von Waveletfunktionen aus der Symlet-Familie

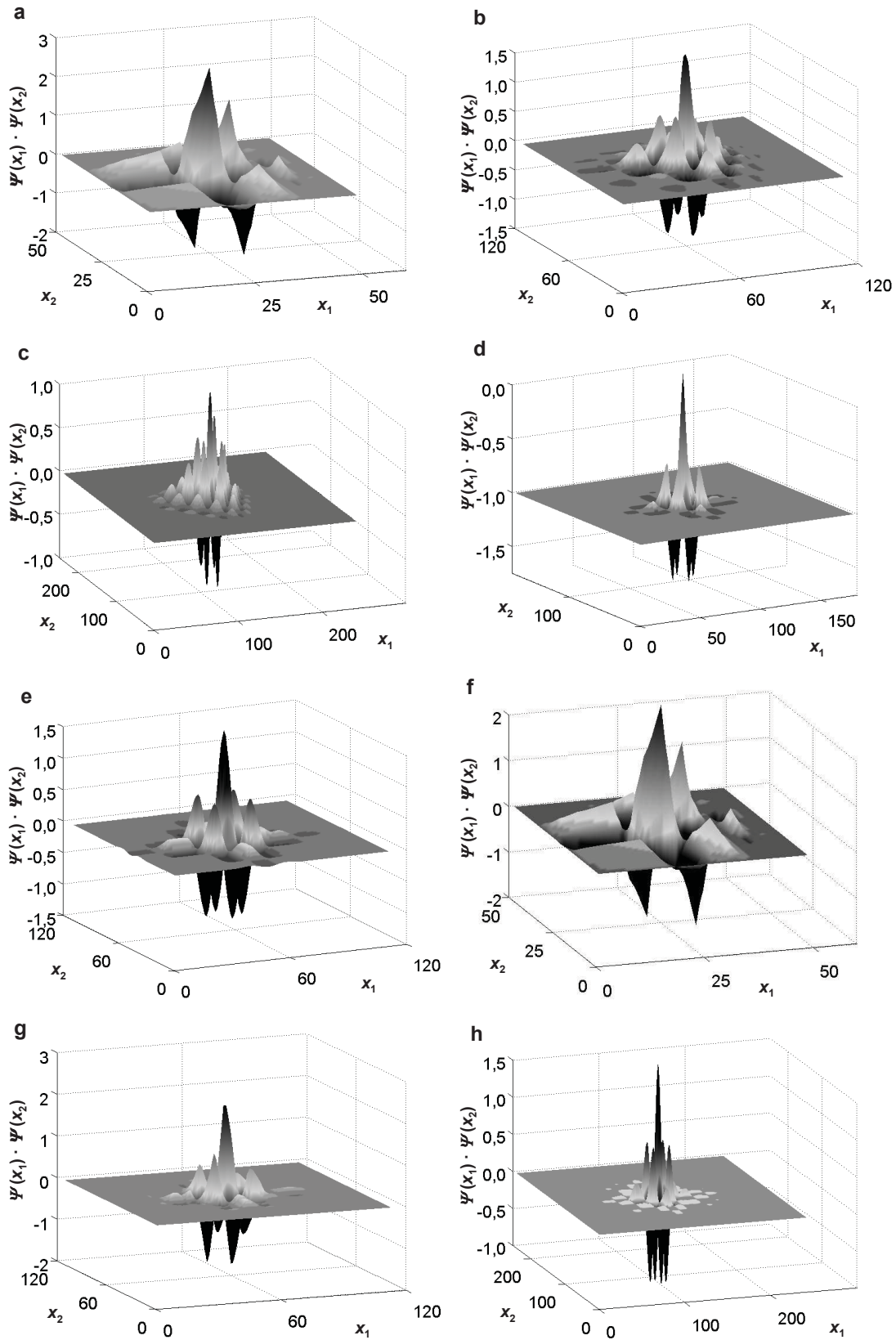


**Abb. A.2** a) Symlet2, b) Symlet4, c) Symlet6, d) Symlet8, e) Symlet10, f) Symlet12



### Anhang 3

#### Darstellung dreidimensionaler Waveletfunktionen



**Abb. A.3** a) Db2-Wavelet, b) Db4-Wavelet, c) Db8-Wavelet, d) Coiflet2, e) Coiflet4, f) Symlet2, g) Symlet4 und h) Symlet8

## Anhang 4

### Bestimmung von As(III) mittels Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma

**Tab. A.1** Kenndaten der Kalibrierfunktion und Rauschamplitude, vor und nach dem Entrauschen mittels mathematischer Methoden der Signalbehandlung

<i>Methode</i>	$a_1$ in $L/(\mu g \cdot s)$	$a_o$ in $s^{-1}$	$s_{y,c}$ in $s^{-1}$	$R_{PP}$ in $s^{-1}$
Original	182	86,5	23,8	90,3
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,041$ min)	147	51,5	12,0	29,2
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,076$ min)	118	52,8	9,55	24,4
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,097$ min)	102	51,7	7,91	21,8
FT ( $\nu_0 = 100$ )	130	51,9	10,6	22,9
FT ( $\nu_0 = 150$ )	149	51,6	13,6	25,5
Db2-Wavelet	184	76,8	22,2	18,3
Db4-Wavelet	179	71,0	31,9	19,3
Coiflet2	177	32,0	18,8	17,5
Coiflet4	183	56,2	26,5	19,2
Symlet2	184	76,8	22,2	18,3
Symlet4	190	49,4	28,2	16,9
Symlet8	181	60,9	30,2	19,0

**Tab. A.2** Signal-Rausch-Verhältnis für  $c_{As} = 2,4 \mu g/L$  und Nachweisgrenze mit Verbesserungsfaktor, vor und nach dem Entrauschen

<i>Methode</i>	<i>SNR</i>	<i>Verbesserung</i>	<i>NG</i> in $\mu g/L$	<i>Verbesserung</i>
Original	4,77		0,248	
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,041$ min)	11,4	2,4	0,100	2,5
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,076$ min)	10,8	2,3	0,104	2,4
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,097$ min)	10,5	2,2	0,106	2,3
FT ( $\nu_0 = 100$ )	12,6	2,6	0,088	2,8
FT ( $\nu_0 = 150$ )	13,8	2,9	0,080	3,1
Db2-Wavelet	23,4	4,9	0,050	5,0
Db4-Wavelet	20,5	4,3	0,054	4,6
Coiflet2	21,6	4,5	0,049	5,0
Coiflet4	20,4	4,3	0,052	4,7
Symlet2	23,4	4,9	0,050	5,0
Symlet4	23,6	5,0	0,045	5,6
Symlet8	20,5	4,3	0,052	4,7



## Anhang 5

### Bestimmung von DMA mittels Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma

**Tab. A.3** Kenndaten der Kalibrierfunktion und Rauschamplitude, vor und nach dem Entrauschen mittels mathematischer Methoden der Signalbehandlung

Methode	$a_1$ in $L/(\mu g \cdot s)$	$a_0$ in $s^{-1}$	$s_{y,c}$ in $s^{-1}$	$R_{PP}$ in $s^{-1}$
Original	89,0	111	21,9	90,3
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,041$ min)	78,4	69,4	7,92	29,2
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,076$ min)	76,3	67,1	6,24	24,4
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,097$ min)	70,6	65,1	5,54	21,8
FT ( $\nu_0 = 100$ )	85,2	67,6	7,65	22,9
FT ( $\nu_0 = 150$ )	86,7	67,5	8,09	25,5
Db2-Wavelet	106	56,7	18,8	18,3
Db4-Wavelet	101	67,6	26,3	19,3
Coiflet2	84,0	71,8	12,7	17,5
Coiflet4	103	56,5	32,2	19,2
Symlet2	196	56,7	18,8	18,3
Symlet4	99,2	65,5	20,6	16,9
Symlet8	97,1	70,6	30,1	19,0

**Tab. A.4** Signal-Rausch-Verhältnis für  $c_{As} = 2,4 \mu g/L$  und Nachweisgrenze mit Verbesserungsfaktor, vor und nach dem Entrauschen

Methode	SNR	Verbesserung	NG in $\mu g/L$	Verbesserung
Original	2,77		0,507	
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,041$ min)	7,04	2,5	0,186	2,7
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,076$ min)	8,07	2,9	0,160	3,2
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,097$ min)	8,35	3,0	0,154	3,3
FT ( $\nu_0 = 100$ )	9,58	3,5	0,134	3,8
FT ( $\nu_0 = 150$ )	8,90	3,2	0,147	3,4
Db2-Wavelet	13,0	4,7	0,087	5,8
Db4-Wavelet	11,8	4,3	0,095	5,3
Coiflet2	12,8	4,6	0,104	4,9
Coiflet4	11,5	4,2	0,093	5,4
Symlet2	13,0	4,7	0,087	5,8
Symlet4	14,1	5,1	0,085	5,9
Symlet8	11,8	4,2	0,098	5,2

## Anhang 6

### Bestimmung von As(V) mittels Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma

**Tab. A.5** Kenndaten der Kalibrierfunktion und Rauschamplitude, vor und nach dem Entrauschen mittels mathematischer Methoden der Signalbehandlung

Methode	$a_1$ in $L/(\mu g \cdot s)$	$a_0$ in $s^{-1}$	$s_{y,c}$ in $s^{-1}$	$R_{PP}$ in $s^{-1}$
Original	62,3	103	7,13	90,3
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,041$ min)	61,6	59,8	4,99	29,2
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,076$ min)	58,6	60,0	3,82	24,4
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,097$ min)	54,9	57,6	3,27	21,8
FT ( $\nu_0 = 100$ )	64,0	59,3	3,71	22,9
FT ( $\nu_0 = 150$ )	64,4	62,9	5,71	25,5
Db2-Wavelet	73,6	58,5	8,55	18,3
Db4-Wavelet	69,0	54,2	6,45	19,3
Coiflet2	63,5	59,0	8,43	17,5
Coiflet4	60,8	64,7	6,46	19,2
Symlet2	73,6	58,5	8,55	18,3
Symlet4	69,4	53,7	8,52	16,9
Symlet8	65,5	58,4	6,66	19,0

**Tab. A.6** Signal-Rausch-Verhältnis für  $c_{As} = 2,4 \mu g/L$  und Nachweisgrenze mit Verbesserungsfaktor, vor und nach dem Entrauschen

Methode	SNR	Verbesserung	NG in $\mu g/L$	Verbesserung
Original	2,24		0,724	
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,041$ min)	5,29	2,4	0,237	3,1
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,076$ min)	5,97	2,7	0,208	3,5
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,097$ min)	6,25	2,8	0,198	3,7
FT ( $\nu_0 = 100$ )	6,90	3,1	0,179	4,1
FT ( $\nu_0 = 150$ )	6,33	2,8	0,198	3,7
Db2-Wavelet	9,61	4,3	0,125	5,8
Db4-Wavelet	8,28	3,7	0,140	5,2
Coiflet2	8,59	3,8	0,138	5,3
Coiflet4	8,22	3,7	0,158	4,6
Symlet2	9,60	4,3	0,125	5,8
Symlet4	9,82	4,4	0,122	5,9
Symlet8	8,50	3,8	0,145	5,0

## Anhang 7

### Bestimmung von AsB mittels Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma

**Tab. A.7** Kenndaten der Kalibrierfunktion und Rauschamplitude, vor und nach dem Entrauschen mittels mathematischer Methoden der Signalbehandlung

<i>Methode</i>	$a_1$ in $L/(\mu g \cdot s)$	$a_o$ in $s^{-1}$	$s_{y,c}$ in $s^{-1}$	$R_{PP}$ in $s^{-1}$
Original	128	87,6	13,7	90,3
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,041$ min)	113	56,9	7,43	29,2
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,076$ min)	106	57,5	5,37	24,4
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,097$ min)	97,8	56,5	4,88	21,8
FT ( $\nu_0 = 100$ )	119	55,7	6,01	22,9
FT ( $\nu_0 = 150$ )	123	56,7	7,18	25,5
Db2-Wavelet	125	71,8	17,4	18,3
Db4-Wavelet	135	44,9	13,9	19,3
Coiflet2	122	57,6	11,1	17,5
Coiflet4	140	38,6	15,7	19,2
Symlet2	125	71,8	17,4	18,3
Symlet4	139	48,0	25,7	16,9
Symlet8	137	43,7	19,6	19,0

**Tab. A.8** Signal-Rausch-Verhältnis für  $c_{As} = 2,4 \mu g/L$  und Nachweisgrenze mit Verbesserungsfaktor, vor und nach dem Entrauschen

<i>Methode</i>	<i>SNR</i>	<i>Verbesserung</i>	<i>NG</i> in $\mu g/L$	<i>Verbesserung</i>
Original	3,62		0,352	
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,041$ min)	9,06	2,5	0,130	2,7
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,076$ min)	10,4	2,9	0,115	3,1
Gauß-Kurve ( $w_{0,5} = 0,097$ min)	10,8	3,0	0,111	3,2
FT ( $\nu_0 = 100$ )	12,4	3,4	0,096	3,7
FT ( $\nu_0 = 150$ )	11,3	3,1	0,104	3,4
Db2-Wavelet	16,2	4,5	0,074	4,8
Db4-Wavelet	15,0	4,2	0,071	4,9
Coiflet2	15,6	4,3	0,072	4,9
Coiflet4	14,8	4,1	0,069	5,1
Symlet2	16,2	4,5	0,074	4,8
Symlet4	16,3	4,5	0,061	5,8
Symlet8	14,8	4,1	0,069	5,1

## Anhang 8

### Bestimmung von Cadmium mittels inverser Voltammetrie

**Tab. A.9** Kenndaten der Kalibrierfunktion und Rauschamplitude, vor und nach dem Entrauschen mittels mathematischer Methoden der Signalbehandlung

<i>Methode</i>	$a_l$ in $(pA \cdot L)/\mu g$	$a_o$ in $pA$	$s_{y,c}$ in $pA$	$R_{PP}$ in $pA$
Original	3870	108	12,9	122
FT ( $\nu_0 = 20$ )	2940	205	8,57	0,900
Coiflet2	3410	71,7	9,73	0,335
Coiflet4	3340	75,3	5,70	0,370
Symlet2	3450	77,5	5,91	1,00
Symlet8	3710	39,8	14,8	0,442

**Tab. A.10** Signal-Rausch-Verhältnisse nach dem Entrauschen mittels Symlet2 und Symlet8 mit Verbesserungsfaktoren

$c_{Cd}$ in $\mu g/L$	Symlet2		Symlet8	
	<i>SNR</i>	<i>Verbesserungsfaktor</i>	<i>SNR</i>	<i>Verbesserungsfaktor</i>
0,01	105	99	129	122
0,02	154	95	287	177
0,03	179	92	376	193
0,04	218	101	431	200
0,05	247	101	508	207
0,06	282	103	573	209

## Anhang 9

### Bestimmung von Cadmium mittels High-Resolution-Continuum-Atomabsorptionsspektrometrie mit elektrothermischer Atomisierung

#### Auswertung zweidimensionaler Spektren

**Tab. A.11** Kenndaten der Kalibrierfunktion und Rauschamplitude, vor und nach dem Entrauschen mittels mathematischer Methoden der Signalbehandlung

<i>Methode</i>	$a_1$ in $L/\mu g$	$a_o$	$s_{y,c}$	$R_{PP}$
Original	$4,51 \cdot 10^{-3}$	$1,11 \cdot 10^{-3}$	$0,131 \cdot 10^{-3}$	$3,20 \cdot 10^{-3}$
Db2-Wavelet	$5,00 \cdot 10^{-3}$	$-0,067 \cdot 10^{-3}$	$0,061 \cdot 10^{-3}$	$0,809 \cdot 10^{-3}$
Db4-Wavelet	$4,39 \cdot 10^{-3}$	$-0,077 \cdot 10^{-3}$	$0,096 \cdot 10^{-3}$	$0,678 \cdot 10^{-3}$
Coiflet2	$4,66 \cdot 10^{-3}$	$-0,130 \cdot 10^{-3}$	$0,120 \cdot 10^{-3}$	$0,614 \cdot 10^{-3}$
Symlet4	$5,09 \cdot 10^{-3}$	$-0,169 \cdot 10^{-3}$	$0,182 \cdot 10^{-3}$	$0,617 \cdot 10^{-3}$
Symlet8	$4,35 \cdot 10^{-3}$	$-0,083 \cdot 10^{-3}$	$0,081 \cdot 10^{-3}$	$0,626 \cdot 10^{-3}$

**Tab. A.12** Signal-Rausch-Verhältnisse nach dem Entrauschen mittels Wavelet-Transformation bei den Konzentrationen der acht Kalibrierpunkte

<i>Methode</i>	Cadmiumkonzentration in $\mu g/L$							
	<i>0,06</i>	<i>0,10</i>	<i>0,16</i>	<i>0,20</i>	<i>0,26</i>	<i>0,30</i>	<i>0,36</i>	<i>0,40</i>
Original	0,459	0,471	0,557	0,569	0,775	0,791	0,862	0,882
Db2-Wavelet	0,408	0,455	0,862	1,13	1,50	1,79	2,08	2,46
Db4-Wavelet	0,386	0,528	0,857	1,22	1,47	1,75	2,07	2,73
Coiflet2	0,409	0,584	0,986	1,28	1,50	1,82	2,64	3,06
Symlet4	0,523	0,571	0,969	1,26	1,51	2,11	2,53	3,52
Symlet8	0,401	0,575	0,923	1,28	1,54	1,80	2,35	2,85

## Anhang 10

### Bestimmung von Cadmium mittels High-Resolution-Continuum-Atomabsorptionsspektrometrie mit elektrothermischer Atomisierung

#### Auswertung dreidimensionaler Spektren

**Tab. A.13** Kenndaten der Kalibrierfunktion und Rauschamplitude, vor und nach dem Entrauschen mittels mathematischer Methoden der Signalbehandlung

<i>Methode</i>	$a_1$ in L/ $\mu$ g	$a_o$	$s_{y,c}$	$R_{PP}$
Original	$4,51 \cdot 10^{-3}$	$1,11 \cdot 10^{-3}$	$0,131 \cdot 10^{-3}$	$2,98 \cdot 10^{-3}$
Db2-Wavelet	$4,35 \cdot 10^{-3}$	$-0,208 \cdot 10^{-3}$	$0,100 \cdot 10^{-3}$	$1,10 \cdot 10^{-3}$
Db4-Wavelet	$4,15 \cdot 10^{-3}$	$-0,352 \cdot 10^{-3}$	$0,175 \cdot 10^{-3}$	$1,28 \cdot 10^{-3}$
Coiflet2	$6,31 \cdot 10^{-3}$	$-0,492 \cdot 10^{-3}$	$0,181 \cdot 10^{-3}$	$0,799 \cdot 10^{-3}$
Symlet4	$7,51 \cdot 10^{-3}$	$-0,658 \cdot 10^{-3}$	$0,282 \cdot 10^{-3}$	$0,704 \cdot 10^{-3}$
Symlet8	$6,10 \cdot 10^{-3}$	$-0,459 \cdot 10^{-3}$	$0,157 \cdot 10^{-3}$	$0,759 \cdot 10^{-3}$

**Tab. A.14** Signal-Rausch-Verhältnisse nach dem Entrauschen mittels Wavelet-Transformation für bei den Konzentrationen der acht Kalibrierpunkte

<i>Methode</i>	Cadmiumkonzentration in $\mu$ g/L							
	<i>0,06</i>	<i>0,10</i>	<i>0,16</i>	<i>0,20</i>	<i>0,26</i>	<i>0,30</i>	<i>0,36</i>	<i>0,40</i>
Original	0,494	0,507	0,599	0,612	0,834	0,850	0,928	0,948
Db2-Wavelet	0,171	0,088	0,442	0,610	0,829	0,977	1,15	1,51
Db4-Wavelet	0,108	0,014	0,178	0,260	0,431	0,765	0,814	1,19
Coiflet2	0,203	0,126	0,256	0,845	1,45	1,88	2,26	2,59
Symlet4	0,297	0,111	0,479	0,793	1,48	2,37	2,83	3,79
Symlet8	0,178	0,139	0,517	0,890	1,25	1,96	2,23	2,81

## **Danksagung**

An erster Stelle gilt mein besonderer Dank Herrn Prof. Dr. Jürgen W. Einax, der mir mit der Themenstellung ermöglichte, noch ein wenig über die gemeinhin bekannte analytische Chemie hinaus zu blicken. Ich danke für die hervorragende wissenschaftliche Betreuung, die besonders in sehr ausführlichen Diskussionen Ausdruck fand, aber auch dafür, dass er mir immer wieder mit einer optimistischen Sicht auf die Dinge gezeigt hat, dass es sich lohnt, weiter zu forschen.

Herrn Prof. Dr. Klaus Danzer danke ich für die Übernahme des zweiten Gutachtens, sowie für viele Hinweise und Ratschläge in Bezug auf die Berechnung von Nachweisgrenzen und Signal-Rausch-Verhältnissen.

Weiterhin gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. Karl Molt für die Übernahme des dritten Gutachtens und interessante Hinweise zur Entwicklung neuer Wavelet-Funktionen.

Mein großer Dank geht an alle ehemaligen und jetzigen Mitarbeiter des Lehrbereichs Umweltanalytik für die immerzu freundliche und fruchtbare Arbeitsatmosphäre.

Besonders Denis Pick hat über seine eigene Forschung (Messungen der Arsenspezies mittels HPLC-ICP-MS) die grundlegenden und umfassenden Untersuchungen zum Einsatz verschiedener Methoden der Signalbehandlung erst möglich gemacht. Vor allem dafür, aber auch für den Erfahrungsaustausch zum Thema Signale und Rauschen möchte ich mich bedanken. Tobias Limburg danke ich für die Messungen an der HR-CS-AAS und die Gespräche über die Signalauswertung bei dreidimensionalen Spektren. Weiterhin bedanke ich mich bei Kristin Schaefer für die ständigen Diskussionen, weil durch den Gedankenaustausch selbst mathematische Beschreibungen greifbar und verständlich werden konnten. Außerdem danke ich ihr für die kritische Begutachtung von Fachtexten jeglicher Art.

Der Analytik Jena AG danke ich für die großzügige Bereitstellung des contrAA 700 im Lehrbereich Umweltanalytik und, vertreten durch Frau Dr. Heike Gleisner, für die Beantwortung aller Fragen rund um Spektren und Bearbeitungsmöglichkeiten.

Zu guter Letzt gilt natürlich mein besonderer Dank meiner Familie, meinen Freunden und allen ungenannten, die mich während der Promotionszeit auf die eine oder andere Art unterstützt haben.

## **Selbständigkeitserklärung**

Ich erkläre, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen angefertigt habe.

Jena, 30.06.2011

Simon Prikler